Aus der II. Inneren Abteilung des Krankenhaus-
betriebes von Berlin-Neukölln
(Chefärztin: Prof. Dr. med. Irene Boll)

EINWIRKUNG VON SEREN MIT ERHÖHTEM IMMUNGLOBULINGEHALT (IgA, IgM bzw. IgG) AUF NORMALES MENSCHLICHES KNOCHEN-MARK IN VITRO.

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Bamborschke, Maria
aus Berlin

1978

Aus der II. Inneren Abteilung des Krankenhaus-
betriebes von Berlin-Neukölln
(Chefärztin: Prof. Dr. med. Irene Boll)

EINWIRKUNG VON SEREN MIT ERHÖHTEM IMMUNGLOBULIN-GEHALT (IgA, IgM bzw. IgG) AUF NORMALES MENSCHLICHES KNOCHENMARK IN VITRO

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Bamborschke, Maria
aus Berlin

Referent: Professor Dr. med. Irene Boll
Korreferent: Professor Dr. H. Riehm

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 24.1.1978

GLIEDERUNG

		Seite
Immunglobuline, Paraproteine, Paraproteinämien		5
Fragestellung		11
Methode		11
Ergebnisse		
I	Beurteilung der Mittelwertkurven	22
II	Beurteilung der gemittelten Mitoseindizes	41
III	Karyologische Kurven	45
IV	Beurteilung der gemittelten G/E-Indizes	49
V	Signifikanzberechnungen	51
Diskussion		55
Zusammenfassung		60
Literaturverzeichnis		61

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544718_0037

IMMUNGLOBULINE - PARAPROTEINE - PARAPROTEINÄMIEN

Zur Trennung und Differenzierung der Eiweißkörper des Blutplasmas stehen heute zahlreiche verschiedene Methoden zur Verfügung: Ausfällung mit anorganischen Salzen, Äther- und Alkoholfraktionierung, Säulenchromatographie, Ultrazentrifugieren, Elektrophorese auf verschiedenen Trägermedien und Immunelektrophorese (3, p. 15-18). Die Immunglobuline (Ig), wie der Name sagt, Proteine von Globulincharakter mit Antikörperfunktion, bilden elektrophoretisch die Gammaglobulinfraktion und lassen sich immunelektrophoretisch in fünf große Gruppen unterteilen: IgG (= γ G), IgA (= γ A), IgM (= γM), IgD (= γ D) und IgE (= γ E).

Die Immunglobulinklasse IgG steht nach der Menge im Plasma (1240mg/100ml Serum) an erster Stelle (>80%). Ihr Molekulargewicht ist mit 150 000 das geringste, daher können IgG als einzige unter den Immunglobulinen die Plazentaschranke passieren. Zu dieser Klasse gehören vor allem die Antikörper gegen Bakterien und Viren, auch der LE-Faktor (3, p. 22-23).

Die Klasse IgA kommt außer im Plasma (280mg/100ml Serum) vor allem in Sekreten vor wie im Kolostrum, Speichel, Tränenflüssigkeit, Nasen-, Bronchial- und Darmsekret. Das Molekulargewicht des Serum-IgA beträgt 170 000, das des Sekret-IgA mehr als das doppelte.

IgM besitzt mit 890 000 das größte Molekulargewicht. Die Serumkonzentration beläuft sich hier auf 120mg/100ml. Hierzu gehören vor allem Agglutinine und Lysine, also Antikörper gegen partikuläre und zelluläre Antigene, besonders auch gegen polysaccharidhaltige Hüllsubstanzen. Bei Antigenkontakt sind die Immunglobuline der Klasse IgM die ersten Antikörper, die

im Serum erscheinen, sie werden dann nach 14 Tagen durch die IgG bzw. IgA Globuline ersetzt. Bestimmte Antikörper, so z.B. die Typhus-O-Agglutinine, gehören jedoch immer der IgM-Klasse an.

IgD und IgE wurden erst vor einigen Jahren (1965/66) entdeckt. Eine spezifische Funktion von IgD ist bisher unbekannt, seine Serumkonzentration ist mit etwa 3mg/100ml sehr gering.

Die Immunglobuline der Klasse IgE stellen die sog. Reagine dar, Serumkonzentration 0,03mg/100ml, Molekulargewicht 196 000. Auf ihrer Eigenschaft, sich fest und langzeitig an Mastzellen, hauptsächlich in Haut und Schleimhäuten zu binden, beruhen zahlreiche allergische Reaktionen.

Der molekulare Aufbau der Immunglobuline zeigt als Grundeinheit zwei leichte und zwei schwere Polypeptidketten, die durch Disulfidbrücken miteinander verbunden sind und außerdem einen Kohlenhydratanteil gebunden enthalten. Die leichten oder L-Ketten, Molekulargewicht ca. 22 000, existieren in zwei verschiedenen Formen, als κ-Typ (60%) und als λ-Typ (40%). Sie kommen in allen Immunglobulinklassen vor. Die H-Ketten dagegen sind klassenspezifisch und werden jeweils mit dem entsprechenden griechischen Buchstaben bezeichnet, d.h. IgG enthält den γ-Typ (Molekulargewicht ca. 50 000), IgM den μ-Typ (Molekulargewicht ca. 70 000) usw. Jede L-Kette läßt sich in zwei, jede H-Kette in vier Regionen zu etwa 110 Aminosäuren aufgliedern, die jeweils für verschiedene Funktionen des Immunglobulins zuständig sind. Die erste Region vom N-terminalen Ende aus ist in allen Ketten variabel und für die Antigenspezifität verantwortlich, wobei je eine benachbarte H- und L-Kette eine Antigenbindungsstelle bilden, so daß eine Vierketteneinheit also zwei Antigenbindungsstellen besitzt. Die übrigen Regionen der H- und L-Ketten sind in ihrer Aminosäurezusammensetzung konstant und bestimmen Komplementbindung, Abbaurate usw. (22, p. 792-795).

Die Immunglobuline der Klassen IgG, IgD und IgE kommen als Monomere vor, IgA im Serum monomer, in den Sekreten dimer und zwar zwei Vierketteneinheiten verbunden durch ein Zwischen-

stück, IgM pentamer.

Antikörperbildung ist im Organismus überall dort möglich, wo immunkompetente Zellen mit Antigen in Verbindung kommen. Von den Organen sind vor allem Milz, Lymphknoten, Knochenmark und Lunge an der Antikörperbildung beteiligt (30, p. 203-204).

Mit zahlreichen verschiedenen Methoden, z.B. Fluoreszenzmarkierung, wurde nachgewiesen, daß zur Antikörperbildung sowohl lymphoide Zellen wie Plasmazellen befähigt sind. Isolierung von Einzelzellen in Mikrotropfen ergab, daß die Lymphozyten etwa ein Drittel, die Plasmazellen zwei Drittel der Antikörper bilden (30, p. 205).

Von den Lymphozyten existieren zwei verschiedene Populationen, die Thymus- oder T-Lymphozyten und die Bursa- oder B-Lymphozyten. Selektive Ausschaltung des Thymus und der Bursa Fabricii bei Vögeln ergab, daß die T-Lymphozyten für die zellgebundene und die B-Lymphozyten für die humorale Abwehr zuständig sind. Der Bursa der Vögel entspricht beim Menschen das lymphatische Gewebe des Gastrointestinaltraktes (30, p. 221-224).

Über die Abstammung der Plasmazellen wurden verschiedene Hypothesen aufgestellt. Es werden eine mesenchymale Herkunft (KEILHACK und LINCK[31]; FLEISCHHACKER[26]; BRASS[13]; DI GUGLIELMO[28]; UNDRITZ[41]), die Ableitung vom Myeloblasten (APITZ[1]; OSGOOD und ASHWORTH[36]), eine Zugehörigkeit zum retikulohistiozytären System (LAMBIN[34]; DE WEERDT[42]; BESSIS und SCEBAT[5], FERRATA[24], SABRAZES[40]) und die lymphatische Abstammung (DUBOIS-FERRIERE[19], KLIMA[33]) diskutiert.[14] Autoradiographisch nachgewiesen ist die Entstehung von Plasmazellen aus B-Lymphozyten über B-Immunoblasten und die Vorstufen Proplasmoblast und Plasmoblast (3, p. 132-134).

Die Rolle der Makrophagen in der Antikörperbildung wurde zuerst von FISHMAN und seiner Arbeitsgruppe untersucht. Makrophagen bilden unter Einfluß des von ihnen phagozytierten Antigens ein Reaktionsprodukt, wahrscheinlich eine RNS, die - an die antikörperbildenden Zellen weitergegeben - in diesen die Bildung des spezifischen Antikörpers auslöst.[25]

Zur Rolle des Antigens bei der Synthese des korrespondierenden Antikörpers gibt es unterschiedliche Thesen. Die induktiven oder "template" Theorien wie die Matrizentheorie von PAULING[37] und HAUROWITZ[29] und die genetische Theorie von EHRICH[20], COONS[17] u.a. stehen den selektiven Theorien wie der "Clonal Selection Theorie" von BURNET (1959)[16] gegenüber.

Untersuchungen zur Frage, was eine Einzelzelle an Immunglobulinen zu synthetisieren vermag, ergaben, daß sie sowohl H- als auch L-Ketten bilden kann, von jeder Kettenform aber nur einen Typ. Nur 1-2% der Zellen können gleichzeitig zwei verschiedene Kettentypen synthetisieren (30, p. 213-217).

Zur Menge der von einer einzelnen Zelle gebildeten Immunglobuline ist festzustellen, daß ein zellphysiologisch vorgegebenes Maximum nicht überschritten werden kann. Aufgrund dieser Tatsache kann man beim Plasmozytom vom Paraproteinspiegel auf die Menge der Tumorzellen schließen, jedoch nur auf die Minimalmenge, denn die Immunglobulinsekretion der Plasmozytomzellen kann unterschiedlich sein und auch ganz fehlen (0,5g % Paraprotein entsprechen einem Tumorgewicht von 40g).[15]

Unter den die Antikörpersynthese regulierenden Faktoren wird unter anderem auch eine Rückkopplungshemmung angenommen, d.h. zirkulierende Antikörper hemmen die Produktion weiterer Antikörper gleicher Antigenspezifität (30, p. 226-227).

Zu den Immunglobulinen gehören nach Ansicht der meisten Autoren auch die Paraproteine. Paraproteine sind funktionell minderwertige Globuline, die von neoplastischen Zellen des lymphoid-plasmazellulären-retikulären Systems gebildet werden (35, p. 401). Sie stimmen mit den Immunglobulinen in ihrer chemischen Struktur weitgehend überein und besitzen auch Antikörpereigenschaften. So wurden z.B. IgG-Myelomglobuline mit Antistreptolysin O- und anti-Staphylolysinaktivität gefunden. Das meiste, was heute über die chemischen und physikalischen Eigeschaften der Immunglobuline bekannt ist, wurde in Untersuchungen an Paraproteinen entdeckt (30, p. 143-151).

Chemische Unterschiede der Paraproteine von normalen Globulinen liegen vor allem in der Zusammensetzung der Aminosäuren, sowie im Gehalt an Kohlenhydraten (35, p. 402).

Elektrophoretisch und immunelektrophoretisch zeichnen sich die Paraproteine gegenüber den normalen Immunglobulinen durch einen engen Wanderungsbereich aus. Während die normalen Immunglobuline eines einzelnen Menschen innerhalb derselben Immunglobulinklasse eine starke Heterogenität ihrer Gesamtladung aufweisen, die sich in einem breiten elektrophoretischen Wanderungsbereich ausdrückt, zeigt das Paraprotein des einzelnen Patienten große Homogenität, also eine einheitliche spitze schmalbasige Bande. Es wird daher angenommen, daß im Einzelfalle die neoplastischen paraproteinbildenden Zellen von einem einzigen Zellklon abstammen und die Paraproteine also "einen klonusspezifischen Ausschnitt aus dem gesamten Immunglobulinspektrum darstellen" (32, p. 1). Die Paraproteine verschiedener Patienten sind untereinander ebenso verschieden wie normale Immunglobuline. Die Paraproteine können allen Immunglobulinklassen angehören und elektrophoretisch im β- oder γ-Globulinbereich wandern, wie auch die normalen Immunglobuline der Klassen IgA und IgM elektrophoretisch mehr im β-Bereich wandern und die IgG-Linie sich immunelektrophoretisch vom γ-Bereich bis zum α_2-Bereich erstreckt (3, p. 22; 30, p. 143-145). Am häufigsten sind jedoch Zacken im γ-Bereich (50-60% der Myelome). Selten kommen bei einem Patienten auch zwei verschiedene Paraproteintypen vor ("Doppelgradient") (35, p. 401-402).

Die wichtigsten Paraproteinämien sind das Plasmozytom und die Makroglobulinämie Waldenström. Neben diesen malignen Formen sind auch benigne sogenannte idiopathische Paraproteinämien beschrieben, in Einzelfällen wurde jedoch der Übergang in ein typisches Plasmozytom beobachtet.[21)]

Die mittlere Erkrankungshäufigkeit an Plasmozytom in verschiedenen Ländern beträgt 1 pro 100 000 jährlich. Das Morbiditätsmaximum liegt zwischen dem 50. und 70. Lebensjahr.[18)]

Beim Plasmozytom liegt der monoklonalen Gammopathie eine maligne Tumorbildung retikulärer Plasmazellen zugrunde. Die Makroglobuline des Morbus Waldenström sind ein Produkt neoplastisch wuchernder lymphoider Retikulumzellen. Das Tumorwachstum führt beim Plasmozytom zu Skelettschäden mit Knochenschmerzen und Spontanfrakturen, weiter zu Knochenmarkverdrängung. Unter den Blutbildveränderungen steht bei Plasmozytom und Makroglobulinämie die Anämie im Vordergrund. In Untersuchungen mit radioaktiven Eisen- und Chromisotopen fand PRIBILLA als deren häufigste Ursache eine absolut oder relativ aplastische Erythropoese bei meist nur gering verkürzter Erythrozytenlebensdauer.[38] Folgen der Paraproteinämie sind vor allem Zirkulationsstörungen aufgrund der gesteigerten Blutviskosität, Paramyloidablagerungen in verschiedenen Organen, Paraproteinurie und Nierenschädigung. Die Verdrängung der normalen Immunglobulinsynthese führt zu immunologischer Insuffizienz (35, p. 404-405). Therapeutisch werden Zytostatika eingesetzt, vor allem Cyclophosphamid (Endoxan) und Melphalan (Alkeran), auch in Kombination mit Steroiden.[23]

Über mögliche Einwirkungen des erhöhten Immunglobulinspiegels bei Paraproteinämien auf das Wachstum der hämatopoetischen Zellen des Knochenmarks liegen noch keine Untersuchungen vor. In Bezug auf die beim Plasmozytomkranken auftretenden Blutbildveränderungen (verschiedene Anämieformen, Thrombopenie und weniger häufig auch Leukopenie) wäre wichtig zu untersuchen, ob die Paraproteine im Knochenmarkblut diese Störungen auslösen. In vorliegender Arbeit soll daher geklärt werden, ob die verschiedenen Immunglobulinklassen die Proliferation der erythropoetischen und granulopoetischen Zellen des Knochenmarks beeinflussen.

FRAGESTELLUNG

In vorliegender Arbeit wird die Einwirkung von Seren mit erhöhtem IgA-, IgM- bzw. IgG-Gehalt auf normales menschliches Knochenmark in vitro untersucht. Es soll festgestellt werden, ob die betreffenden Immunglobuline eine hemmende oder fördernde Wirkung oder auch gar keine auf die Regeneration, d.h. auf die Zellteilung und das Zellwachstum, oder die Reifung der Knochenmarkzellen haben, und weiterhin, ob diese Wirkung bei den drei untersuchten Immunglobulinklassen gleich oder unterschiedlich ist. Hierzu wurden Knochenmarkkulturen im Medium mit Eigenserum als Kontrolle und sodann mit Fremdserum als Zusatz angelegt und bis zu 72 Stunden kultiviert. Das Fremdserum stammte von drei Plasmozytomkranken, bei denen die Serumkonzentration jeweils einer der zu untersuchenden Immunglobulinklassen IgA, IgM oder IgG extrem erhöht war.

METHODE

Drei Patienten, eine Frau und zwei Männer, wurden sternalpunktiert und ein Teil des entnommenen Sternalmarks wurde sofort auf Objektträger ausgestrichen und mit May-Grünwald- und Giemsa-Lösung nach PAPPENHEIM gefärbt, der Rest der Markprobe in Kultur gegeben (12, p. 8-11).

Die Knochenmarkkultivierung erfolgte nach der von BOLL modifizierten CARREL'schen Methode der Gewebezüchtung im hängenden Koagulumtropfen (8, p. 37-42). Zur Herstellung des Koagulums wurde anstelle des Hühnerplasmas CARREL's menschliches Nativplasma verwendet, und zwar eben von dem Patienten, dessen Knochenmark kultiviert werden sollte. Als Nährsubstanz wurde Corhormon^{R} zugesetzt, ein Extrakt aus embryonalen Schweine- und Kalbsherzen (Corhormon^{R} der Firma Chemiewerke Homburg, mit dreifach standardisiertem Wirkstoffgehalt).

Die Blutentnahme erfolgt ein bis sechs Stunden vor der Sternalpunktion vom nüchternen Patienten. Zur Plasmagewinnung wird das Blut mittels einer Serumkanüle direkt in ein silikonisiertes steriles Zentrifugenröhrchen gebracht, das im Eisbad bei 6°C im Kühlschrank aufbewahrt wird, bis sich die roten Blutkörperchen abgesetzt haben, so daß das Nativplasma als Überstand bleibt. Zur Serumgewinnung wird eine Blutprobe in einem gewöhnlichen Zentrifugenröhrchen abgenommen, bei Zimmertemperatur bis zur Gerinnung stehengelassen, der Blutkuchen dann abgestochen und der Rest zentrifugiert.

Die Zusammenmischung des Mediums erfolgt in Zentrifugengläsern mittels Pasteurpipetten aus 5 Tropfen = 50% Eigenplasma, 4 Tropfen = 40% Eigenserum und 1 Tropfen = 10% Corhormon. Dieses Medium gerinnt auf einem Objektträger zum Koagulum, dem ein Knochenmarkbröckel, überschichtet mit einem Tropfen Eigenserum, aufgesetzt wird. Das Ganze wird mit einem durch Vaseline befestigten Hohlschliffobjektträger überdeckt, umgedreht, mit Hartparafin luftdicht abgeschlossen und bei 37°C im Brutschrank inkubiert.

Statt des Eigenserums im Medium und dem überstehenden Serumtröpfchen bei der Kontrollkultur wurde bei den Versuchsansätzen eingefrorenes Fremdserum verwendet, jeweils mit erhöhtem IgA-, IgG- oder IgM-Gehalt. Die Konzentrationen im Serum betrugen für IgA 5720 mg %, für IgG 6570 mg % und für IgM 2464 mg %.

Nach 24, 48 und 72 Stunden wurden von den Kulturen Ausstriche analog dem Originalausstrich vom Sternalpunktat angefertigt, luftgetrocknet und nach PAPPENHEIM gefärbt.

Die Auszählung der Ausstriche erfolgte mäanderförmig vorwiegend in den Randpartien, wobei pro Stichprobe 2000 Zellen gezählt wurden. Insgesamt wurden 80 600 Zellen differenziert.

Die Differenzierung der hämatopoetischen Zellen im PAPPENHEIM-gefärbten Ausstrich erfolgte nach den von BOLL beschriebenen Kriterien (12, p. 20-25).

Es wurden folgende erythropoetische Vorstufen unterschieden:

Proerythroblast (PE)
basophiler Erythroblast (bE)
polychromatischer Erythroblast (pE)
oxyphiler Erythroblast (oE)
reifer Erythroblast (rE)

Teilungsfähig sind alle Erythroblasten bis auf die reifen.

Die granulopoetischen Vorstufen wurden differenziert in:

Myeloblasten (Mbl)
Promyelozyten (Prom)
neutrophile Myelozyten (Myel)
eosinophile Myelozyten (Eos)
basophile Myelozyten (Bas)
Promonozyten (Promo)
Jugendliche (Jgdl)
Stabkernige (St)
neutrophile segmentkernige Granulozyten (Segm)
eosinophile segmentkernige Granulozyten (eos)
basophile segmentkernige Granulozyten (Bas)
Monozyten (Mono)

Ungefähr die Hälfte aller granulozytären Zellen sind noch teilungsfähig und zwar alle Myeloblasten, Promyelozyten, Myelozyten und Promonozyten und ein Drittel der Jugendlichen. Die restlichen zwei Drittel der Jugendlichen und alle Stab- und Segmentkernigen sind nicht mehr teilungsfähig. Zur Berechnung der weißen Mitoseindizes werden daher bei einigen Autoren (8, p. 65-66; 39, p. 101) die Jugendlichen mit zu den teilungsfähigen gezählt, bei anderen Autoren (3, p. 75; 11, p. 259) dagegen nicht. In vorliegender Arbeit wurden die Jugendlichen nicht unter den teilungsfähigen Zellen berücksichtigt.

Der Mitosevorgang wird nach BOLL in folgende Phasen unterteilt[6]:

1. Prophase: Übergang vom Ruhekern der Interphase in die

Mitose: Auflösung von Kernmembran und Nukleolus, Sichtbarwerden der Chromosomen: festes Spirem.
2. frühe Metaphase: Kontraktion der Chromosomen und ihre Verteilung über die Zelle: lockeres Spirem.
3. späte Metaphase: Anordnung der Chromosomen zum Monaster bzw. zur Äquatorialplatte und ihre Verdoppelung.
4. Anaphase: Wanderung der Chromosomen zu den Spindelpolen: zwei Äquatorialplatten = Diaster; ellipsenförmige Umwandlung der Zelle.
5. Telophase: beginnende Einschnürung des Zellkörpers, Entspiralisierung der Chromosomen: lockeres Dispirem.
6. Rekonstruktionsphase: vollständige Durchschnürung des Zellkörpers, Wiederherstellung des Interphasenkerns in beiden Tochterzellen: festes Dispirem.

Die Ergebnisse der Differentialzählungen werden, in Prozenten ausgedrückt, in Reifungskurven graphisch dargestellt. Es erfolgt eine additive Auftragung gegen die Zeit, wobei die gesamte Zahl der Erythroblasten und Granuloblasten jeweils getrennt gleich 100% gesetzt wird.

Die Mitoseindizes der roten und der weißen Reihe werden in Promille angegeben, also Anzahl der Mitosen auf 1000 teilungsfähige Zellen. Die prozentuale Verteilung der Mitosephasen wird in karyologischen Kurven graphisch dargestellt. Für die Erythropoese werden wegen der geringen Mitosezahl unter Immunglobulinzusatz die drei Zusätze IgG, IgA und IgM zusammengefaßt. Bei der Granulopoese wird jeder einzelne Zusatz mit der Kontrolle verglichen.

Dem Ausdruck des Verhältnisses der Granulozytopoese zur Erythropoese dient der G/E-Index, der Quotient aus der Gesamtzahl aller granulozytären Zellen zur Gesamtzahl aller Erythroblasten.

Außer den Originalreifungskurven für die einzelnen Patienten werden noch Mittelwertkurven angefertigt. Hierzu wurde zum einen das arithmetische Mittel aus den drei Kontrollansätzen und zum anderen aus den drei Ansätzen für jeden einzel-

nen Zusatz gebildet, um einen besseren Vergleich der Wirkungen der drei verschiedenen Zusätze, IgA, IgG und IgM, zu ermöglichen. Die Mittelung der G/E-Indizes erfolgte ebenso aus den absoluten Zahlen, die Mittelung der Mitoseindizes dagegen direkt aus den Angaben in Promille.

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgt durch Signifikanzberechnung.

Die Signifikanzberechnung wurde nach dem χ^2-Verfahren durchgeführt. Zu jedem χ^2 wird der zugehörige P-Wert (P = probability) aus den Geigy-Tabellen[27] oder den graphischen Tafeln von PÄTAU[4] entnommen. Der P-Wert ist ausschlaggebend, ob die Nullhypothese, die besagt, daß zwei verglichene Werte derselben Grundgesamtheit entstammen, abzulehnen ist oder nicht. Er gestattet damit eine Aussage darüber, ob ein festgestellter Unterschied zwischen Kontrollkurve und Kurve mit Immunglobulinzusatz statistische Bedeutsamkeit besitzt.

Die P-Werte werden wie folgt beurteilt:

		Die Differenz der verglichenen Werte
	$P > 0{,}05$	besitzt keine Signifikanz
$0{,}05 > P > 0{,}01$		ist möglicherweise von Bedeutung
$0{,}01 > P > 0{,}001$		ist statistisch bedeutsam
	$P < 0{,}001$	ist statistisch gut gesichert (Signifikanzschranke)

Den Signifikanzberechnungen wurden die Einzelkurven zugrunde gelegt. Es wurde für die Erythropoese und die Granulopoese jeweils die Kurve mit der geringsten noch statistisch bedeutsamen Differenz zwischen Kontrolle und Zusatz ermittelt. Bei den übrigen Kurven, bei denen die Differenz zwischen Kontrolle und Zusatz höher lag, kann ebenfalls Signifikanz vorausgesetzt werden, zumal die absolute Zahl der ausgezählten Zellen bei allen Kurven in demselben Bereich liegt.

Die Knochenmarkzellen stammen von folgenden drei Patienten:

Patientin J., Ch. geb. 23.9.1901

Klinische Diagnose: Zustand nach SM-Implantation wegen Adam-Stokes-Anfällen, Diabetes mellitus, chronischer Harnwegsinfekt, Lymphosarkom

Knochenmarkdiagnose: Geringe monozytäre Reaktion bei sonst normalen Knochenmarkbestandteilen

Medikation vor der Sternalpunktion

Lanicor® 3 x 0,25 mg
Aldactone® 3 x 2 Drag.
Novalgin® 2 x 10 Tr.
Rastinon® 2 x 1 Tbl.

Blutbild

Erythrozyten	4,35 Mill./µl	Leukozyten	10700/µl
Hb	13,4 g %	Stabk	6 %
Hb_E	30,7 pg	Segm	59 %
HK	38,2 %	Lymph	28 %
Anisozytose		Mono	7 %
Poikilozytose			

Serum-Eiweiß-Elektrophorese 19.9.74

	Normalbereich		Befund	
	rel. %	g/100 ml	rel. %	g/100 ml
Total-Protein	100	6,5-8,2	100	6,71
Albumin	54,5-67,0	4,0-4,9	64,0	4,30
α_1-Globulin	2,3- 4,7	0,2-0,4	4,4	0,29
α_2-Globulin	7,0-12,7	0,5-0,9	8,8	0,59
β_1-Globulin	7,8-13,0	0,6-1,0	7,9	0,53
γ -Globulin	10,7-20,1	0,8-1,5	14,9	1,00

Patient L., B. geb. 6.11.1905

Klinische Diagnose: Hypertonie, Diabetes mellitus, Ren granularis links, Eisenmangelanämie

Knochenmarkdiagnose: Angeregte Erythropoese bei Eisenmangel.

Medikation vor der Sternalpunktion

Lanicor^{R}	2 x 0,25 mg
Catapresan^{R}	0,150 mg 3 x 1 Tbl.
Lefax^{R}	3 x 2 Tbl.
Ceferro^{R}	2 Kps.

Blutbild

Erythrozyten	3,00 Mill./µl	Leukozyten	4700/µl
Hb	7,4 g %	Baso	2 %
Hb_E	24,5 pg	Eos	3 %
HK	24,5 %	Stabk	1 %
Anisozytose		Segm	56 %
Polychromasie		Lymph	25 %
Poikilozytose		Mono	12 %
		atypische mononukleäre Zellen	1 %

Serum-Eiweiß-Elektrophorese 16.9.74

	Befund	
	rel. %	g/100 ml
Total-Protein	100	5,81
Albumin	62,3	3,62
α_1-Globulin	5,1	0,30
α_2-Globulin	10,9	0,63
β_1-Globulin	8,4	0,49
γ -Globulin	13,3	0,77

Patient H., H. geb. 2.5.1924

Klinische Diagnose: peridural wachsender, polymorphzelliger Tumor in Höhe Th 7 bis Th 10, bei dem es sich entweder um ein Rethotelsarkom oder um eine Metastase eines völlig entdifferenzierten Karzinoms handelt.

Knochenmarkdiagnose: Bis auf eine monozytäre Reaktion normaler Knochenmarkbefund.

Medikation vor der Sternalpunktion

Novodigal^{R} 2 x 1 Tbl.
Klinomycin^{R} 1 Tbl.

Blutbild

Erythrozyten	4,9 Mill./µl	Leukozyten	9300/µl
Hb	14,9 %	Baso	1 %
Hb_E	30,4 pg	Eos	1 %
HK	43,6 %	Segm	71 %
Retikulozyten	6 ‰	Lymph	18 %
		Mono	9 %

Thrombozyten 420 000/µl

Serum-Eiweiß-Elektrophorese

	Befund	
	rel. %	g/100 ml
Total-Protein	100	8,39
Albumin	49,9	4,19
α_1-Globulin	5,4	0,45
α_2-Globulin	9,5	0,80
β_1-Globulin	11,7	0,98
γ -Globulin	23,4	1,97

Von den folgenden drei Patienten stammen die Serumzusätze mit erhöhtem Immunglobulingehalt:

Patientin Sch., E. geb. 24.5.1916

Klinische Diagnose: Pathologische Schenkelfraktur links bei IgG-Plasmozytom.

Knochenmarkdiagnose: Plasmozytom mit deutlicher Verdrängung der normalen Hämatopoese, die Erythropoese ist stärker betroffen als die Granulopoese.

Medikation bis zur Blutentnahme am 14.11.73 für die Serumgewinnung

Novodigal^{R} $1\frac{1}{2}$ Tbl.

Endoxan^{R} 200 mg/die, insgesamt 2,8 g, zuletzt 12 Tage vor der Serumspende.

Blutbild

Erythrozyten	4,02 Mill./µl	Leukozyten	8500/µl
Hb	13,2 g %	Stab	1 %
Hb_E	32,7 pg	Segm	81 %
HK	41 %	Lymph	17 %
		Mono	1 %

Serum-Eiweiß-Elektrophorese

	Befund	
	rel. %	g/100 ml
Total-Protein	100	über 12
Albumin	17,8	2,14
α_1-Globulin	1,9	0,23
α_2-Globulin	4,4	0,53
β_1-Globulin	2,0	0,24
γ -Globulin	74,1	8,89

Immunelektrophorese

IgG	6570 mg %
IgA	28 mg %
IgM	6 mg %

Patientin W., T. geb. 10.8.1911

Klinische Diagnose: Inokulationshepatitis, Leberzirrhose, IgA-Plasmozytom, Herz-Kreislauf-Versagen

Knochenmarkdiagnose: Plasmozytom mit Auftreten von Megaloblastoiden

Medikation bis zur Blutabnahme am 4.9.74 für die Serumgewinnung

Lanitop^{R}	2 x 1 Tbl.
Ultracorten^{R}	40 mg
Aldactone^{R}50	3 x 2 Drag.
Hydromedin^{R}	2 Tbl.

Blutbild

Erythrozyten	2,38 Mill./µl	Leukozyten	5300/µl
Hb	8,2 g %	Bas	1 %
Hb_E	34,3 pg	Stab	3 %
HK	25,1 %	Segm	74 %
Anisozytose		Lymph	17 %
		Mono	5 %

Serum-Eiweiß-Elektrophorese

	Befund	
	rel. %	g/100 ml
Total-Protein	100	8,01
Albumin	23,3	1,86
α_1-Globulin	2,7	0,22
α_2-Globulin	4,4	0,35
β_1-Globulin	64,7	5,18
γ -Globulin	5,0	0,40

Immunelektrophorese

IgG	258 mg %
IgA	5720 mg %
IgM	55 mg %

Patient K., E. geb. 3.5.1901

Klinische Diagnose: Asthmoide Emphysembronchitis, postprimäre zirrhotische Lungentuberkulose, Morbus Waldenström

Knochenmarkdiagnose: Kein sicherer Beweis für diffuses Plasmozytom. Es könnte sich um eine reaktive Plasmazellvermehrung handeln.

Medikation bis zur Blutentnahme am 25.9.74 für die Serumgewinnung.

Lanitop^{R}	2 x 1 Tbl.
Atosil^{R}	50 Tr.
Baktrim^{R}	2 x 1 Tbl.
Neoteben^{R}	0,2-0,1-0,2 g
Myambutol^{R}	600 mg
Rifa^{R}	600 mg

Blutbild

Erythrozyten	4,75 Mill./µl	Leukozyten	4700/µl
Hb	13,4 g %	Baso	1 %
Hb_E	18,0 pg	Eos	12 %
HK	40,7 %	Segm	64 %
		Lymph	19 %
		Mono	4 %

Serum-Eiweiß-Elektrophorese

	Befund	
	rel. %	g/100 ml
Total-Protein	100	7,50
Albumin	52,5	3,94
α_1-Globulin	3,4	0,26
α_2-Globulin	7,2	0,54
β_1-Globulin	8,7	0,65
β_2-Globulin	13,9	1,04
γ-Globulin	14,3	1,07

Immunelektrophorese

IgG	1900 mg %
IgA	286 mg %
IgM	2464 mg %

ERGEBNISSE

I. Beurteilung der Mittelwertkurve aus den Kontrollkurven der Patienten J.Ch., L.B. und H.H. und Vergleich mit dem Kurvenverlauf bei Zusatz von IgG, IgA und IgM (Abb. 1, 5, 9).

1. Mittelwertkurve aus den drei Kontrollversuchen (Abb.1 S.26)

Erythropoese: In den Ausgangspräparaten entsprechen die prozentualen Anteile der einzelnen erythropoetischen Vorstufen, da nur wenig verändertes Knochenmark verwendet wurde, in etwa den Normalwerten von BOLL und MERSCH, zeigen im Vergleich zu diesen nur einen etwas höheren Anteil an oxyphilen Erythroblasten. Nach 24 Stunden hat sich der Anteil der basophilen Erythroblasten leicht, derjenige der reifen Erythroblasten stark erhöht, während die polychromatischen und orthochromatischen Erythroblasten prozentual abgenommen haben. Nach 48 und 72 Stunden Kultur zeigt sich eine zunehmende Verringerung der basophilen und polychromatischen Erythroblasten. Die ohnehin geringe Zahl der Proerythroblasten nimmt leicht ab, die oxyphilen Erythroblasten zeigen eine geringe, die reifen Erythroblasten eine starke Zunahme. Es findet also in der Kultur eine zunehmende Ausreifung statt, wie sie BOLL und MERSCH bei der normalen Erythropoese feststellten.

Granulopoese: Die Differentialverteilung in den gemittelten Originalausstrichen entspricht den von BOLL und MERSCH für den Normalfall angegebenen Werten, lediglich der Anteil der Myeloblasten und Promyelocyten ist bei den hier untersuchten Ausstrichen im Durchschnitt etwas geringer, derjenige der Stabkernigen etwas höher. Nach 24 Stunden läßt sich eine stärkere Zunahme der Myelocyten, eine leichte Zunahme der Promyelozyten, Promonozyten und Segmentkernigen und eine Abnahme der Jugendlichen und Stabkernigen feststellen. Myeloblasten und Monozyten bleiben etwa gleich. Nach 48 Stunden ist der Anteil der Promyelozyten, Myelozyten und Promonozyten leicht zurückgegangen zugunsten der Jugendlichen. Die Stab-

kernigen und Segmentkernigen sind unverändert geblieben. Nach 72 Stunden haben sich die teilungsfähigen Reifungsklassen, auch die Jugendlichen stärker verringert. Stabkernige, Segmentkernige und auch Monozyten haben sich entsprechend vermehrt. Dieser Kurvenverlauf entspricht recht genau den Reifungskurven der normalen Granulopoese von BOLL und MERSCH.

2. Zusatz von IgG-Serum (Abb.1)

Erythropoese: Die Mittelwertkurve aus den drei Versuchen mit IgG-Zusatz zeigt in der Kultur nach 24 Stunden eine leichte Rechtsverschiebung gegenüber der Kontrollkurve, die vorwiegend auf einer Vermehrung der polychromatischen und auch oxyphilen Erythroblasten auf Kosten der reifen Erythroblasten beruht. Diese Reifungshemmung im Vergleich zur Kontrollkultur verringert sich mit zunehmender Kulturdauer. Sie ist nach 48 Stunden noch deutlich: Proerythroblasten, basophile und polychromatische Erythroblasten stellen höhere, oxyphile und vor allem reife Erythroblasten geringere Anteile als im Kontrollansatz. Nach 72 Stunden sind Proerythroblasten, basophile und polychromatische Erythroblasten nur noch wenig mehr als in der Kontrolle, die oxyphilen Erythroblasten sind weiter vermindert, aber der Anteil der reifen Erythroblasten entspricht praktisch dem der Kontrollkultur.

Granulopoese: Ein Vergleich der Mittelwertkurve aus den drei IgG-Ansätzen mit der Mittelwertkontrollkurve läßt, wie auch in der Erythropoese, eine leichte Rechtsverschiebung erkennen. Diese beruht vorwiegend auf einer Zunahme der Myelozyten auf Kosten der Segment- und in geringerem Maße auch der Stabkernigen. Allerdings haben auch die Promyelozyten gering abgenommen, während die übrigen Reifungsklassen anteilmäßig konstant geblieben sind. Nach 48 Stunden ist jedoch dieser Reifungsrückstand wieder ausgeglichen, hier fällt lediglich eine geringe Vermehrung der Promonozyten sowie eine leichte Verminderung der Jugendlichen gegenüber der Kontrollkultur

auf. In der 72 Stunden IgG-Kultur ist der Myelozytenanteil minimal höher, der Anteil der Stabkernigen etwas höher und daher der Segmentkernigenanteil geringer als im Kontrollansatz. Die Promonozyten zeigen sich auch hier vermehrt, die Monozyten dafür vermindert, jedoch stellen Promono- und Monozyten zusammengenommen im IgG-Ansatz einen etwas höheren Anteil. Insgesamt läßt sich zu den Promonozyten feststellen, daß die 24 Stunden-Werte in Kontrolle und Zusatz praktisch gleich sind, von 24 bis 48 Stunden in Kontrolle und Zusatz abfallen, in der Kontrolle jedoch rascher , und von 48 bis 72 Stunden in der Kontrolle konstant bleiben, im Zusatz leicht ansteigen. Die Monozytenanteile nehmen in der Kontrolle durchgehend zu, im Zusatz bleiben sie jedoch fast konstant.

Zeichenerklärung zu den Reifungskurven Abb. 1-12

Es wurden folgende Abkürzungen verwendet:

Erythropoese

PE - Proerythroblasten
bE - basophile Erythroblasten
pE - polychromatische Erythroblasten
oE - oxyphile Erythroblasten
rE - reife Erythroblasten

Granulopoese

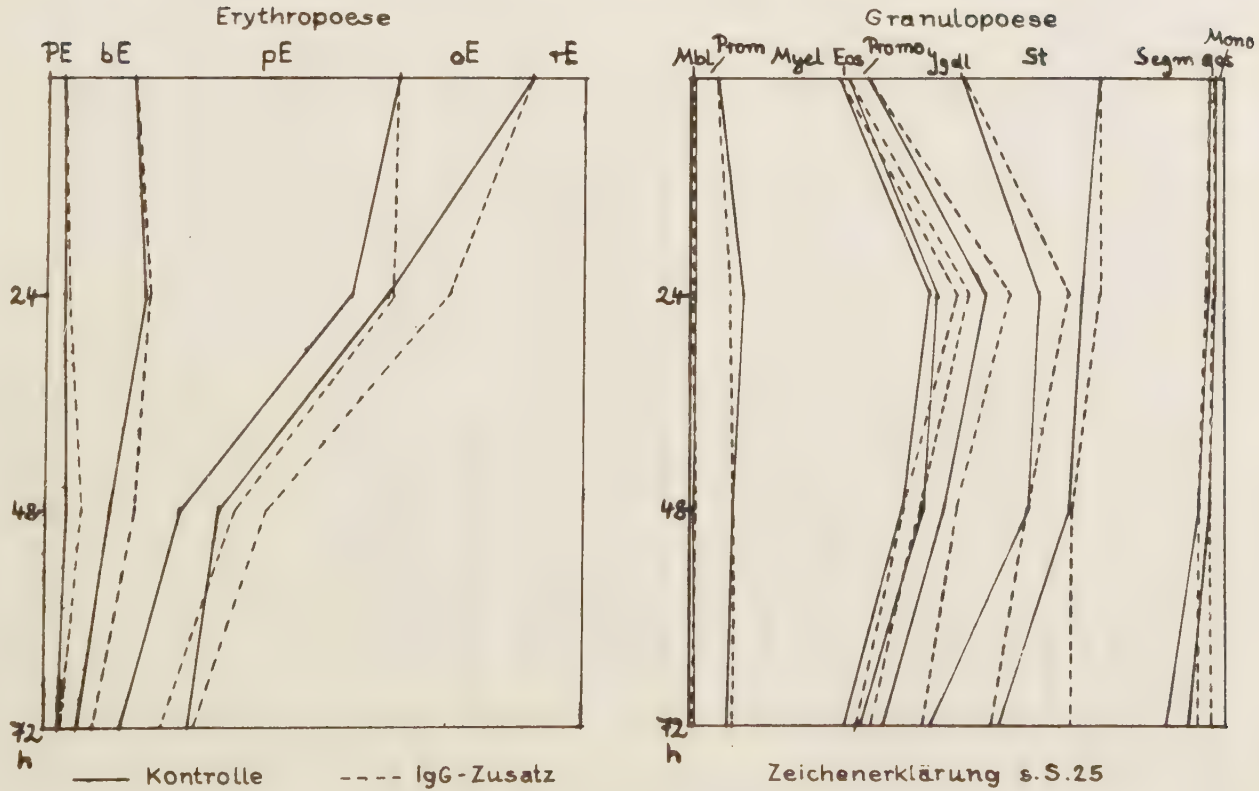
Mbl - Myeloblasten
Prom - Promyelozyten
Myel - neutrophile Myelozyten
Eos - eosinophile Myelozyten
Promo - Promonozyten
Jgdl - neutrophile jugendliche Granulozyten
St - neutrophile stabkernige Granulozyten
Segm - neutrophile segmentkernige Granulozyten
eos - eosinophile segmentkernige Granulozyten
Mono - Monozyten

Ferner gelten folgende Zeichen:

———— Kontrollkulturen
--------- Kulturen mit dem jeweiligen Immunglobulinzusatz (IgG, IgA oder IgM)

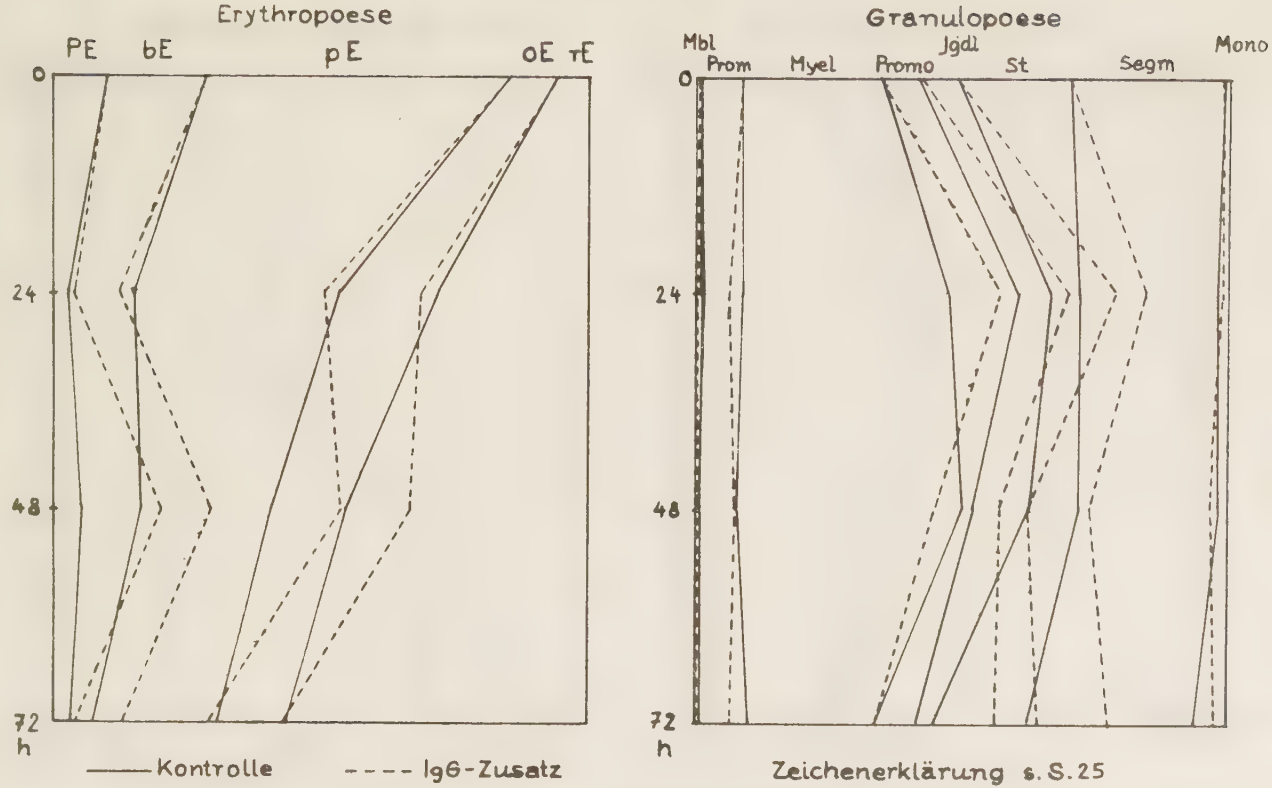
Abb. 1

Mittelwerte Kontrolle und IgG-Zusatz



Zeichenerklärung s. S. 25

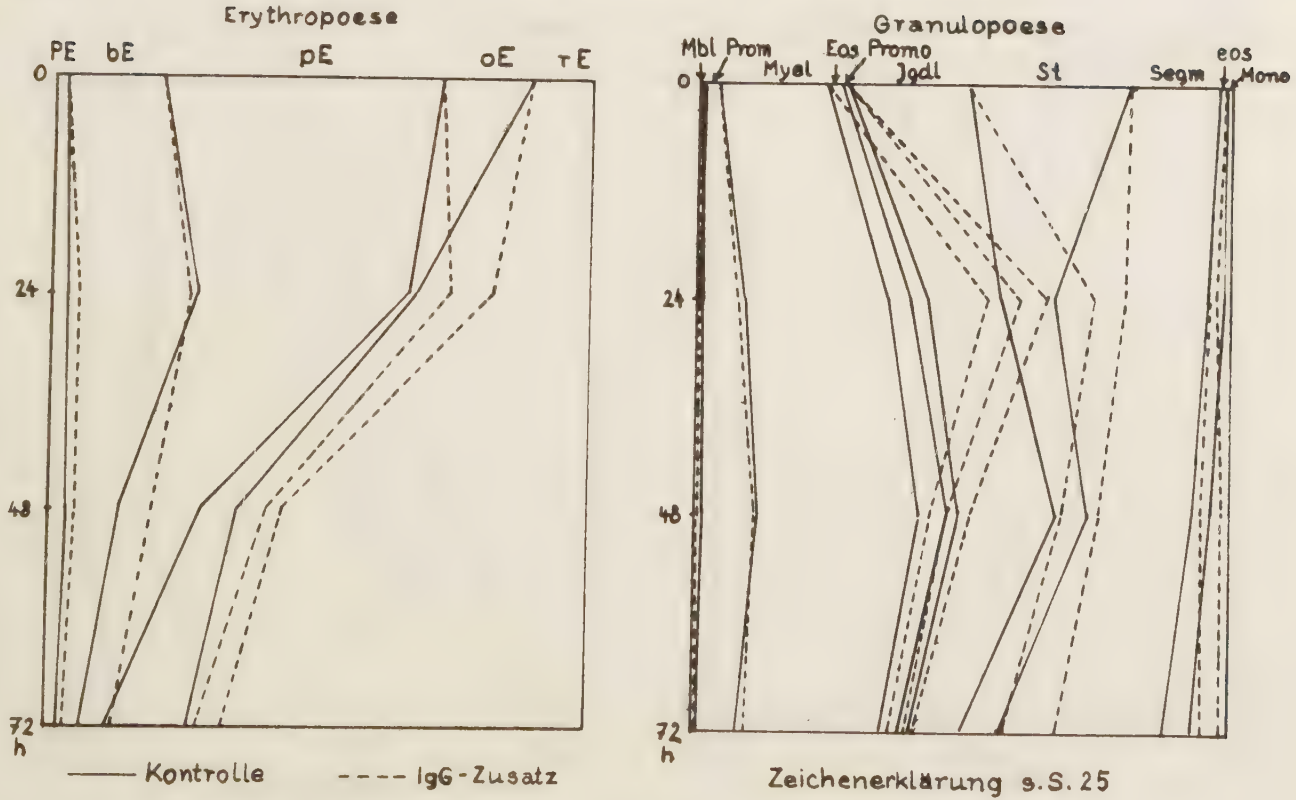
Abb. 2 Patientin J., Ch. Kontrolle und IgG-Zusatz



Zeichenerklärung s. S. 25

Abb. 3

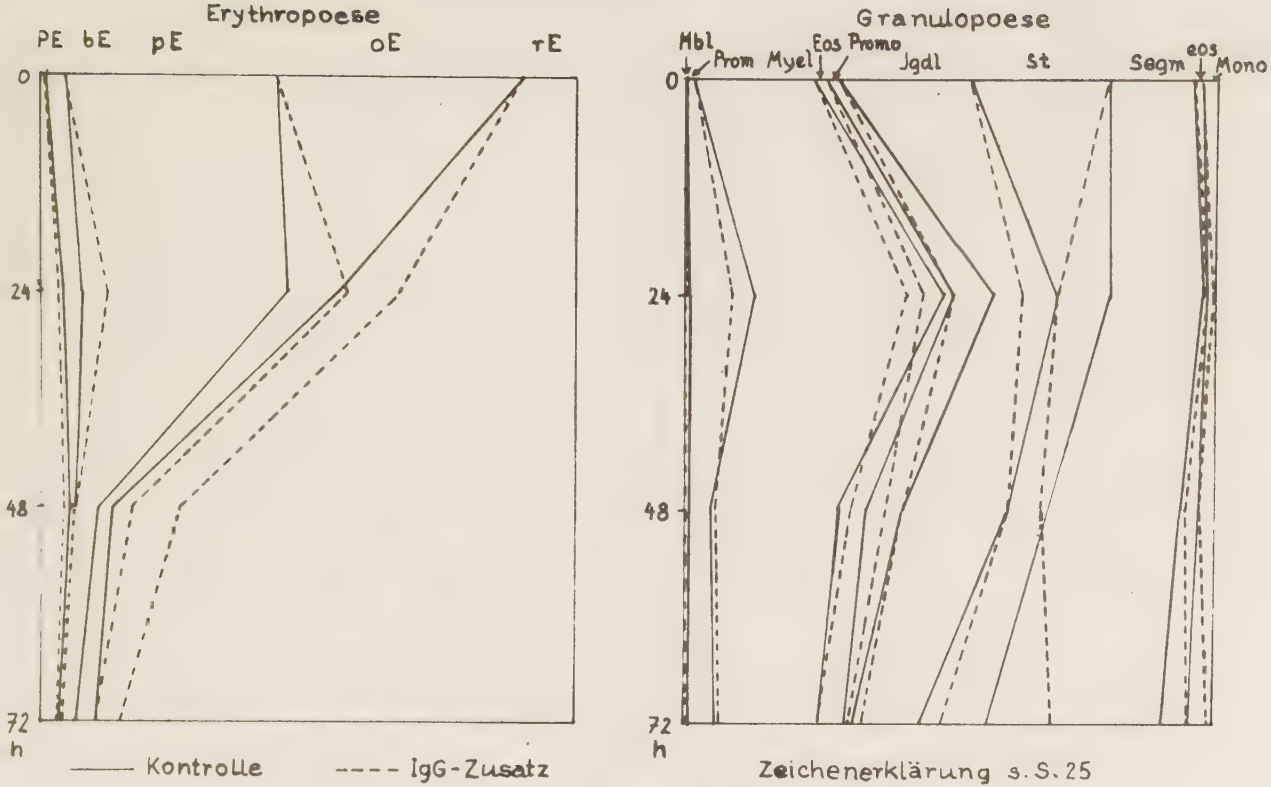
Patient L., B. Kontrolle und IgG-Zusatz



Zeichenerklärung s. S. 25

Abb. 4

Patient H.,H. Kontrolle und IgG-Zusatz



Zeichenerklärung s. S. 25

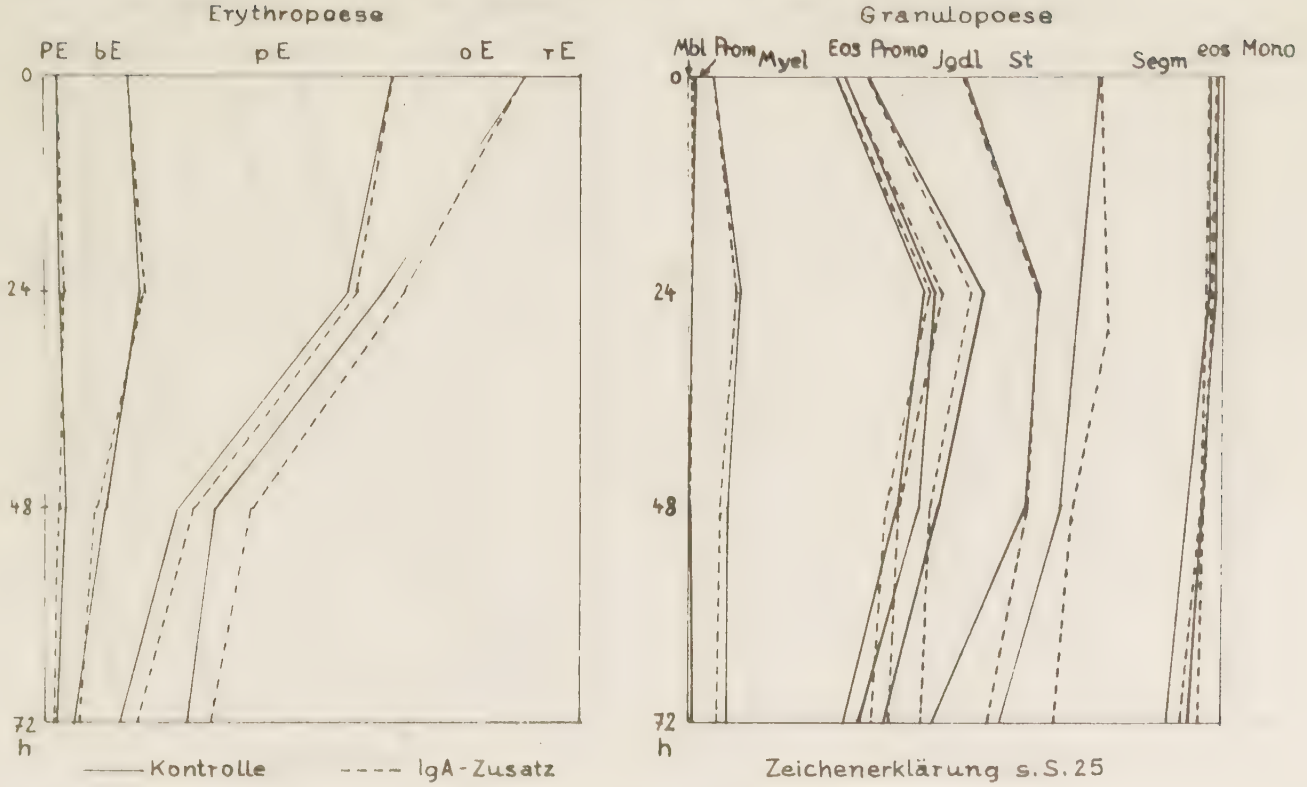
3. Zusatz von IgA-Serum (Abb.5)

Erythropoese: Bei Zusatz von Immunglobulin A ergeben die Mittelwerte nach 24 Stunden eine nur sehr geringe Verminderung der reifen Erythroblasten zugunsten der polychromatischen und oxyphilen Erythroblasten. Dieser geringe Reifungsrückstand gegenüber den Kontrollansätzen bleibt auch nach 48 und 72 Stunden bestehen.

Granulopoese: Zusatz von Immunglobulin A bewirkt nach 24 Stunden neben einer minimalen Vermehrung von Myelozyten und Jugendlichen eine stärkere Zunahme der Stabkernigen und Abnahme der Segmentkernigen, sowie der Promonozyten. Nach 48 Stunden läßt sich umgekehrt ein geringer Promyelocyten- und Myelozytenabfall registrieren, während die Anzahl der Promonozyten und in geringem Maße auch die der Stabkernigen angestiegen ist. Die Segmentkernigen sind praktisch unverändert. In der 72. Kulturstunde weist die IgA-Kurve gegenüber der Kontrolle eine Rechtsverschiebung auf: Vermehrung des Anteils an Myelozyten, Jugendlichen und Promonozyten, Verminderung der Segmentkernigen und Monozyten.

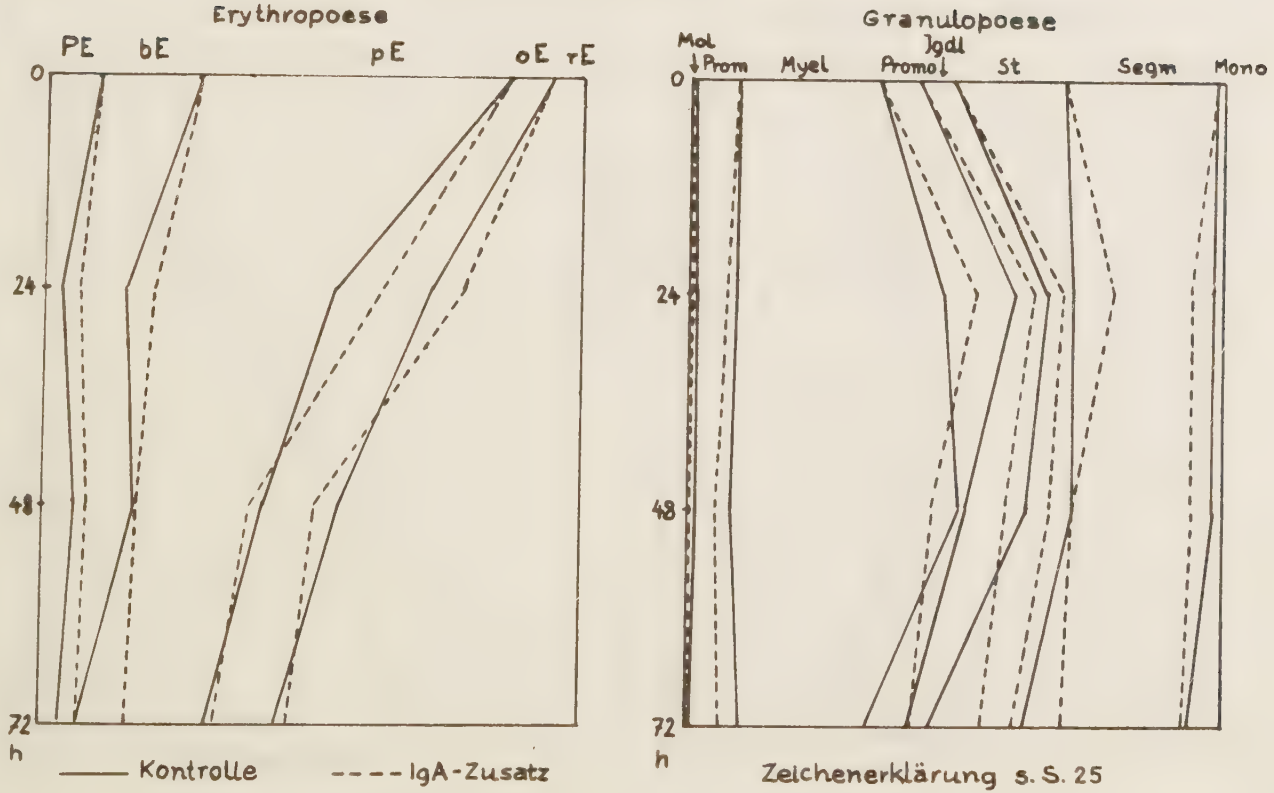
Abb. 5

Mittelwerte Kontrolle und IgA-Zusatz



Zeichenerklärung s.S. 25

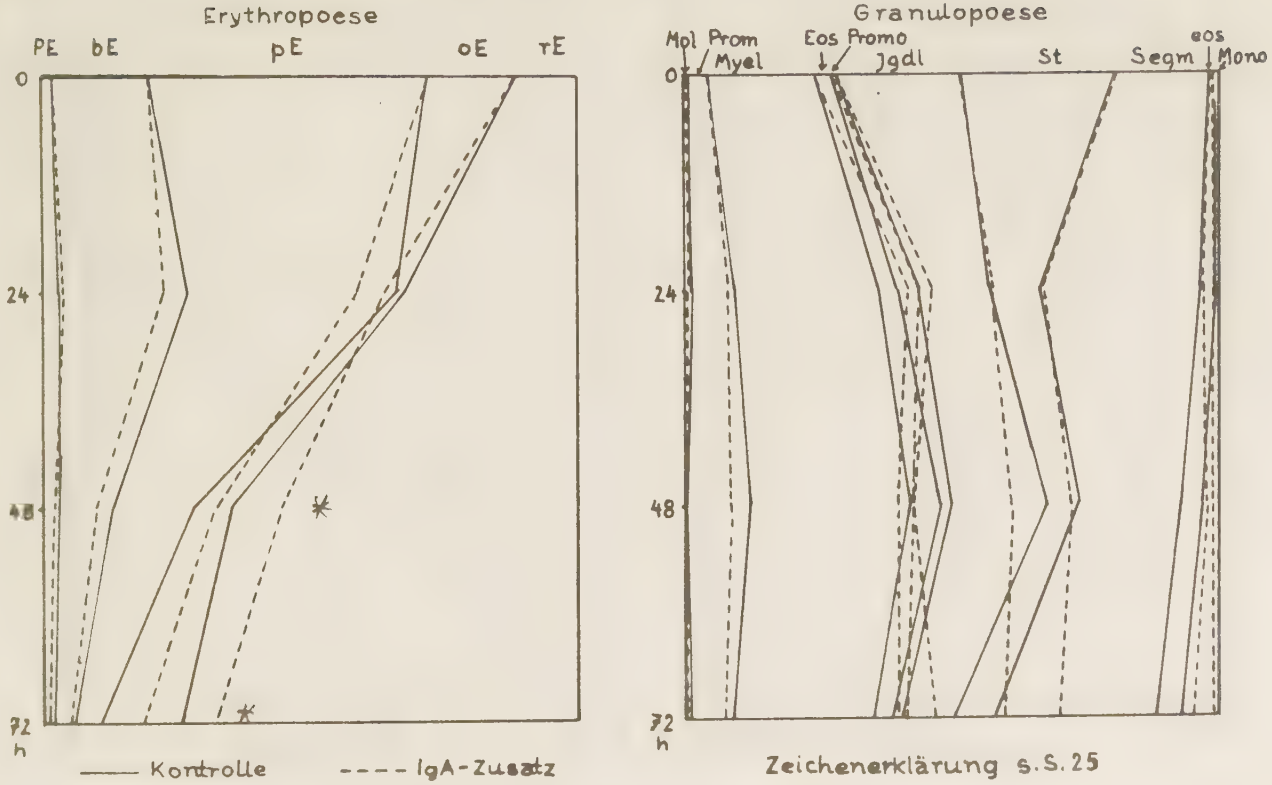
Abb. 6 Patientin J., Ch. Kontrolle und IgA-Zusatz



Zeichenerklärung s. S. 25

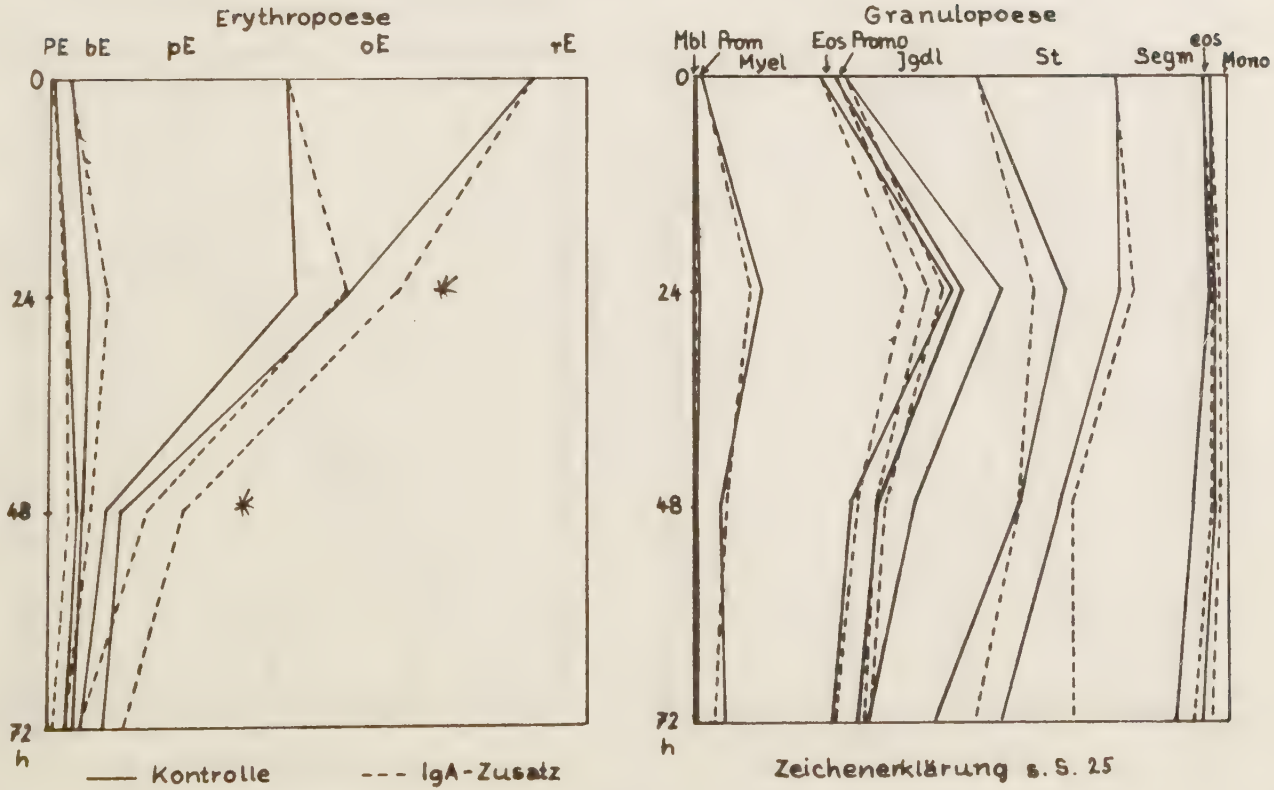
Abb. 7

Patient L.,B. Kontrolle und IgA-Zusatz



Zeichenerklärung s.S.25

Abb. 8 Patient H., H. Kontrolle und IgA-Zusatz



Zeichenerklärung s. S. 25

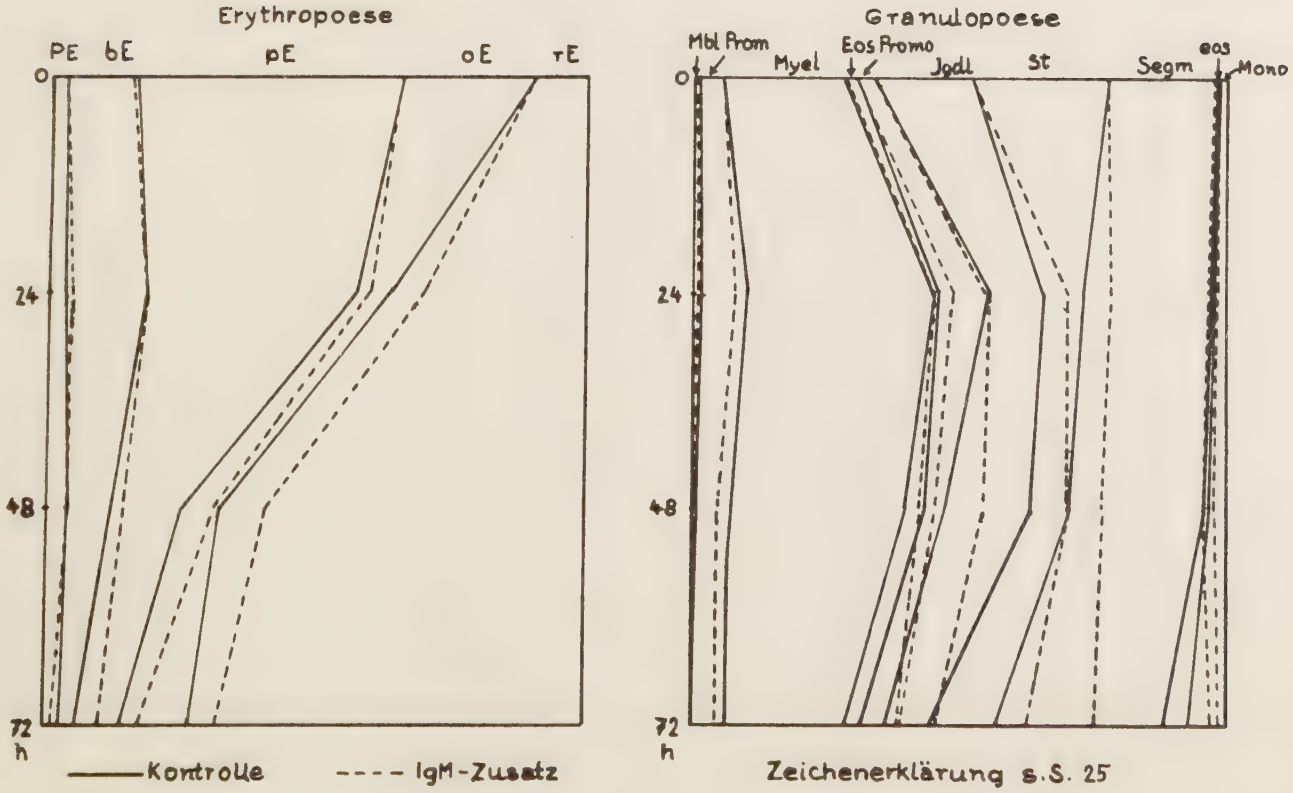
4. Zusatz von IgM-Serum (Abb.9)

Erythropoese: Die Mittelwertkurve der IgM-Zusätze für sich betrachtet zeigt eine mit der Kulturdauer steigende Ausreifung, die jedoch gegenüber der Ausreifung der Kontrollkultur zurückbleibt. Im 24 Stunden-Präparat der IgM-Ansätze sind die polychromatischen und oxyphilen Erythroblasten zuungunsten der reifen leicht vermehrt, im 48 Stunden-Präparat kommt dazu noch eine leichte Vermehrung der basophilen Erythroblasten. Nach 72 Stunden sind die basophilen Erythroblasten noch etwas stärker vermehrt, ebenso die oxyphilen Erythroblasten, die polychromatischen und reifen entsprechend verringert.

Granulopoese: Der Vergleich der Mittelwertkontrollkurve mit der IgM-Mittelwertkurve ergibt eine Zunahme der Jugendlichen auf Kosten der Segmentkernigen unter IgM-Zusatz nach 24 Stunden. Nach 48 Stunden hat sich die Zunahme der Jugendlichen auf die Myelozyten verschoben. Nach 72 Stunden sind sowohl Myelozyten als auch Jugendliche, außerdem Promonozyten vermehrt, die Zahl der Segmentkernigen und Monozyten erniedrigt. Die Zahl der Promyelozyten liegt bei IgM-Zusatz insgesamt etwas niedriger als in der Kontrolle. Die IgM-Kultur für sich betrachtet zeigt auch eine Reifung, die sich bei Abnahme der Myelozyten und Jugendlichen von 24 bis 72 Stunden hauptsächlich im Anstieg des Stabkernigenanteils äußert. Die Segmentkernigen bleiben praktisch gleich.

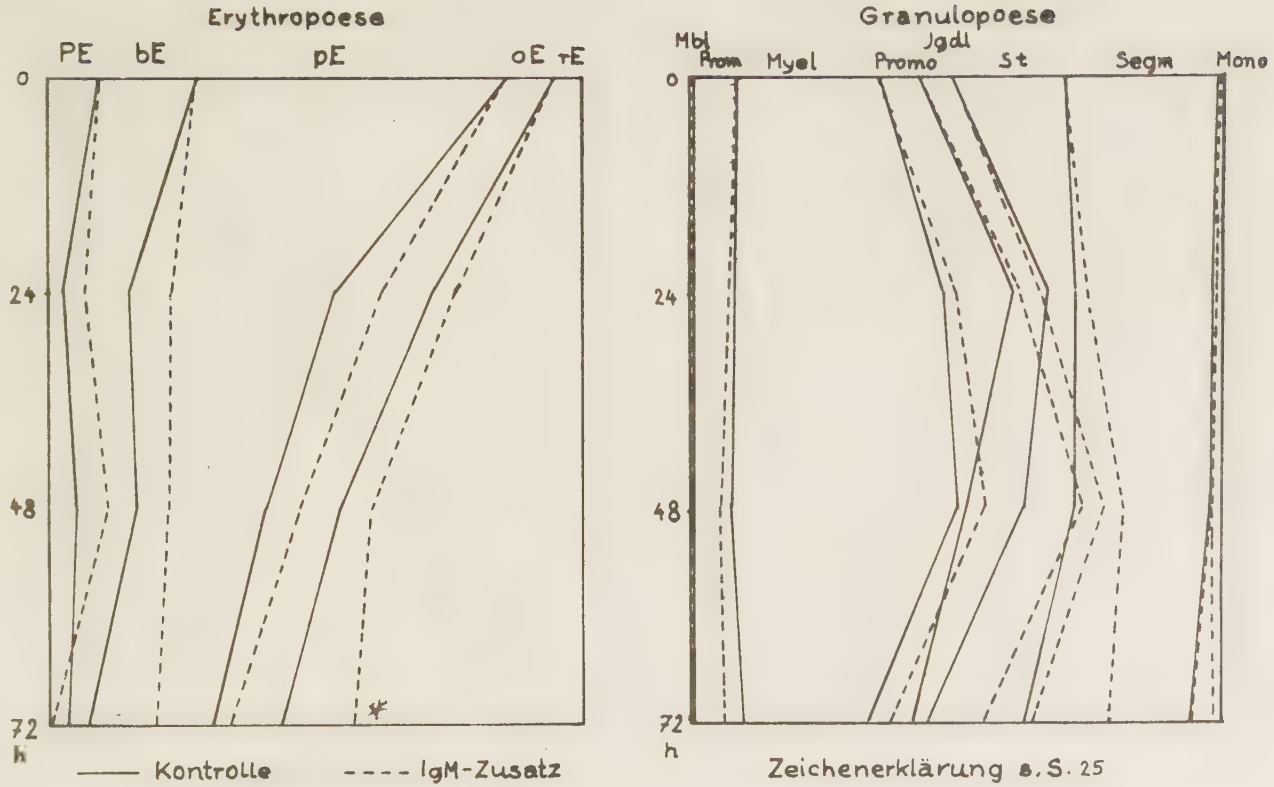
Abb. 9

Mittelwerte Kontrolle und IgM-Zusatz



Zeichenerklärung s.S. 25

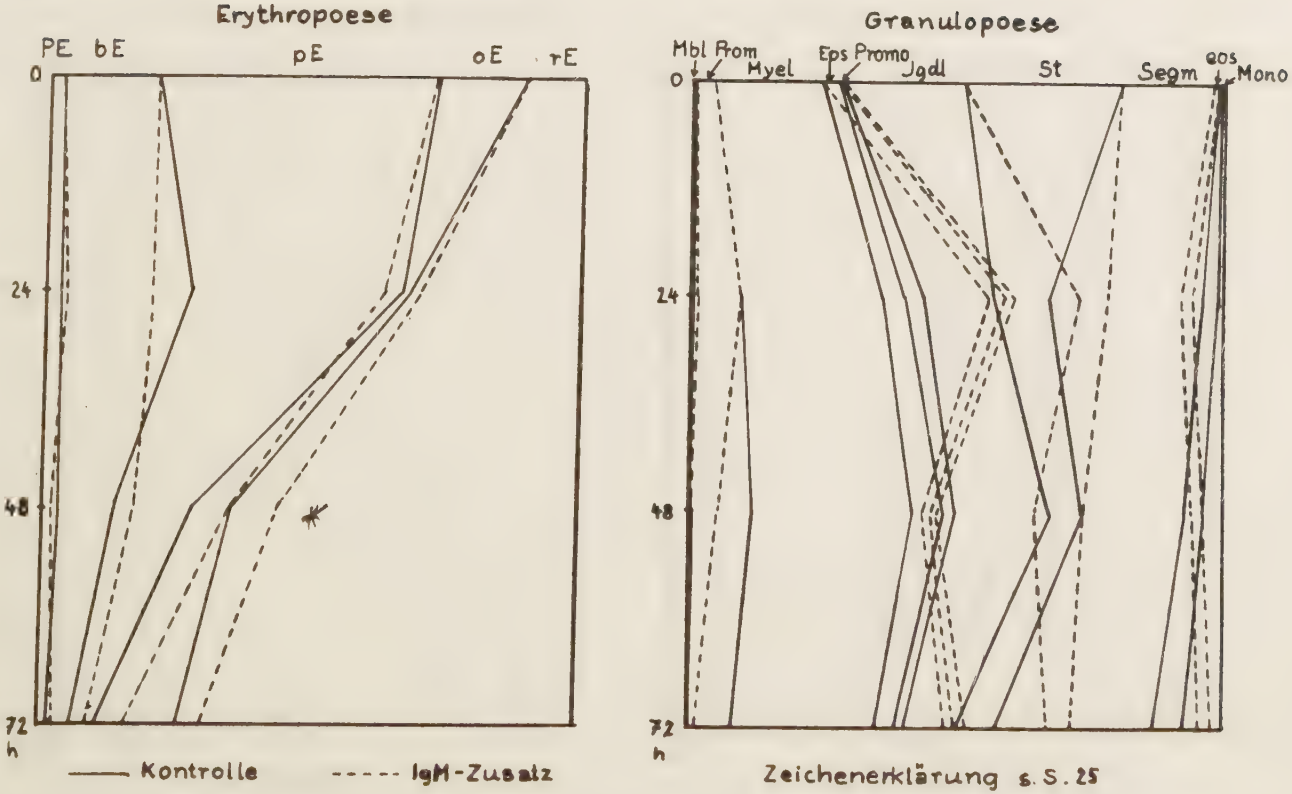
Abb. 10 Patientin J., Ch. Kontrolle und IgM-Zusatz



Zeichenerklärung s. S. 25

Abb. 11

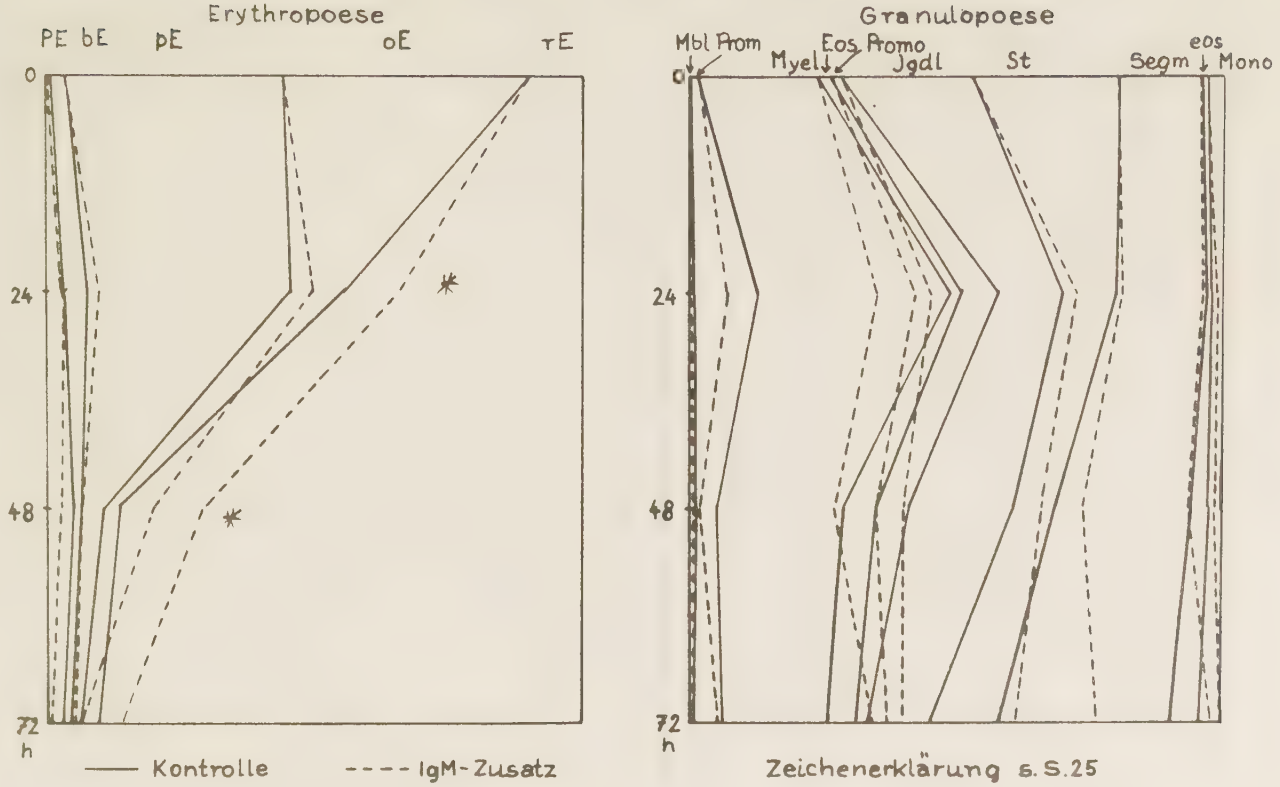
Patient L.B. Kontrolle und IgM-Zusatz



Zeichenerklärung s. S. 25

Abb. 12

Patient H.,H Kontrolle und IgM-Zusatz



Zeichenerklärung s. S. 25

5. Vergleich der Wirkungen der verschiedenen Zusätze IgG, IgA und IgM auf die Erythropoese

Wie die Betrachtung der Mittelwertkurven der einzelnen Zusätze im Vergleich zur Kontrolle zeigte, ist allen Immunglobulinen eine Tendenz der Reifungshemmung bzw. Reifungsverzögerung gemeinsam. Diese Wirkung ist bei IgG nach 24 Stunden am deutlichsten und nimmt danach wieder ab, bei IgA und IgM setzt sie allmählicher ein und ist nach 72 Stunden am ausgeprägtesten.

6. Vergleich der Wirkungen der verschiedenen Zusätze IgG, IgA und IgM auf die Granulopoese

Wie bei der Erythropoese läßt sich auch bei der Granulopoese unter allen Immunglobulinzusätzen eine Rechtsverschiebung feststellen, die nach 24 Stunden unter IgG und nach 72 Stunden unter IgM am deutlichsten ist.

II. Beurteilung der gemittelten Mitoseindizes der Kontrollkulturen und Vergleich mit den gemittelten Mitoseindizes der verschiedenen Zusätze IgG, IgA und IgM

1. Rote Mitoseindizes (Tab.1)

Der Mittelwert der roten Mitoseindizes liegt für die Originalausstriche mit 15,1 ‰ im Bereich des Normalen. Im Laufe der Kultivierung fällt der Mitoseindex ab. Diese Tendenz entspricht BOLL und MERSCH und der zunehmenden Ausreifung.

Die Mittelwerte der roten Mitoseindizes bei IgG-Zusatz zeigen in sich eine abfallende Tendenz wie auch die Mitoseindizes der Kontrolle, gegenüber denen sie im Einzelfalle leicht erniedrigt sind. Unter IgA-Zusatz sind die Mitoseindizes besonders nach 24 Stunden kleiner als die entsprechenden der Kontrolle. Auch bei IgM-Zusatz fallen die Mitoseindizes mit längerer Kultivierung ab und liegen unter den Kontrollwerten. Die Unterschiede zwischen Kontrolle und den verschiedenen Zusätzen sind jedoch nicht signifikant.

Ein Vergleich der verschiedenen Zusätze ergibt, daß der rote Mitoseindex nach 24 Stunden unter IgA, nach 48 und 72 Stunden unter IgM am deutlichsten erniedrigt ist.

Tabelle 1

Rote Mitoseindizes

	0 Std.	24 Std.			
		K	IgA	IgG	IgM
Pat. J.Ch.	11,86	24,84	8,87	18,65	22,47
Pat. L.B.	17,88	9,16	2,98	9,62	11,45
Pat. H.H.	15,41	10,66	5,57	10,43	14,66
Mittelwert	15,05	14,89	5,81	12,90	16,19

	48 Std.			
	K	IgA	IgG	IgM
Pat. J.Ch.	8,19	9,52	16,66	0
Pat. L.B.	13,02	9,78	5,24	6,11
Pat. H.H.	20,00	9,17	8,54	7,04
Mittelwert	13,74	9,49	10,15	4,38

	72 Std.			
	K	IgA	IgG	IgM
Pat. J.Ch.	0	0	11,76	0
Pat. L.B.	12,34	4,92	3,54	0
Pat. H.H.	0	0	0	0
Mittelwert	4,11	1,64	5,10	0

2. Weiße Mitoseindizes (Tab.2)

Der Mittelwert der weißen Mitoseindizes steigt in den Kontrollkulturen nach 24 Stunden zunächst leicht an, um dann nach 48 und 72 Stunden wieder auf den Ausgangswert abzufallen. Er entspricht etwa den Angaben von BOLL und ROHR.

Die Mittelwerte der weißen Mitoseindizes unter IgG-Zusatz zeigen für sich mit zunehmender Kulturdauer eine rückläufige Tendenz, was die Regenerationsabnahme und steigende Ausreifung des Kurvenverlaufs unterstreicht. Sie liegen jeweils unter den Mitoseindizes der Kontrolle, die Unterschiede sind aber nicht signifikant. Ebenso verhalten sich die Mitoseindizes bei den Zusätzen IgA und IgM: Sie liegen nicht signifikant unter den Kontrollwerten und nehmen in sich betrachtet über die Zeit ab.

Tabelle 2

Weiße Mitoseindizes

	0 Std.	24 Std.			
		K	IgA	IgG	IgM
Pat. J.Ch.	19,16	9,13	11,13	10,84	21,71
Pat. L.B.	5,55	12,88	7,44	4,55	5,12
Pat. H.H.	19,41	24,32	20,56	25,03	17,93
Mittelwert	14,71	15,44	13,04	13,47	14,92

	48 Std.			
	K	IgA	IgG	IgM
Pat. J.Ch.	15,03	8,83	14,38	9,58
Pat. L.B.	13,79	9,93	8,19	6,30
Pat. H.H.	13,82	12,86	11,53	20,03
Mittelwert	14,21	10,54	11,36	11,97

	72 Std.			
	K	IgA	IgG	IgM
Pat. J.Ch.	7,75	4,81	7,60	6,60
Pat. L.B.	15,77	5,03	11,01	5,97
Pat. H.H.	19,06	14,65	16,84	10,57
Mittelwert	14,19	8,16	11,82	7,71

III. Karyologische Kurven

In den karyologischen Kurven wird die prozentuale Verteilung der Mitosephasen dargestellt.

In der Erythropoese beträgt die Gesamtsumme aller gezählten Mitosen in den Kontrollkulturen 47, unter allen drei Immunglobulinzusätzen zusammen 65. Der Kurvenverlauf der Kontrollkulturen zeigt einen kontinuierlichen Anstieg von einem Prophasenanteil um 10% zu einem Maximum von etwa 35% bei den späten Metaphasen. Darauf fällt die Kurve ab über die Ana- und Telophasen bis zu den Rekonstruktionsphasen mit etwa 6%. Unter Immunglobulinzusatz zeigt die Kurve einen fast gleichen Verlauf bis zu den späten Metaphasen, dann aber folgt ein Minimum mit etwa 8% bei den Anaphasen und ein Anstieg über die Telophasen zu einem Rekonstruktionsphasenanteil von 15%.

In der Granulopoese beträgt die Mitosezahl 104 in den Kontrollversuchen, 69 unter IgG-Zusatz, 57 unter IgA-Zusatz und 67 unter IgM-Zusatz. Der Prophasenanteil liegt in den Kontrollkulturen bei 12%. Die späten Metaphasen bilden mit etwa 50% das Maximum. Die Ana-, Telo- und Rekonstruktionsphasenanteile bewegen sich in Bereichen um 10%, wobei die Telophasen mit 4% das Minimum darstellen. Dieser Kurvenverlauf zeigt eine weitgehende Übereinstimmung mit den karyologischen Kurven der normalen Granulopoese von BOLL (8, p. 54).
Unter Immunglobulinzusatz finden sich nur geringfügige Abweichungen von diesem normalen Kurvenverlauf. Es läßt sich jedoch eine Tendenz zur Abnahme der frühen Mitosephasen bei Zunahme der späten Teilungsphasen erkennen. So verringert sich vor allem unter IgG-Zusatz der Anteil der Prophasen und frühen Metaphasen gegenüber den Kontrollkulturen. Der Anstieg der Telo- und Rekonstruktionsphasenanteile im Vergleich zur Kontrolle ist unter IgM-Zusatz am deutlichsten. Dieses Ergebnis spricht für eine Hemmung der Regeneration durch Immunglobulinzusatz. Die Zahl der in die Mitose eintretenden Zellen vermindert sich (8, p. 52-53).

Die Unterschiede zwischen Kontrollkulturen und Immunglobulinzusätzen erreichen aufgrund der geringen Mitosezahl der einzelnen Mitosephasen weder in der roten noch in der weißen Reihe statistische Bedeutsamkeit.

Abb.13 Prozentuale Verteilung der Mitosephasen

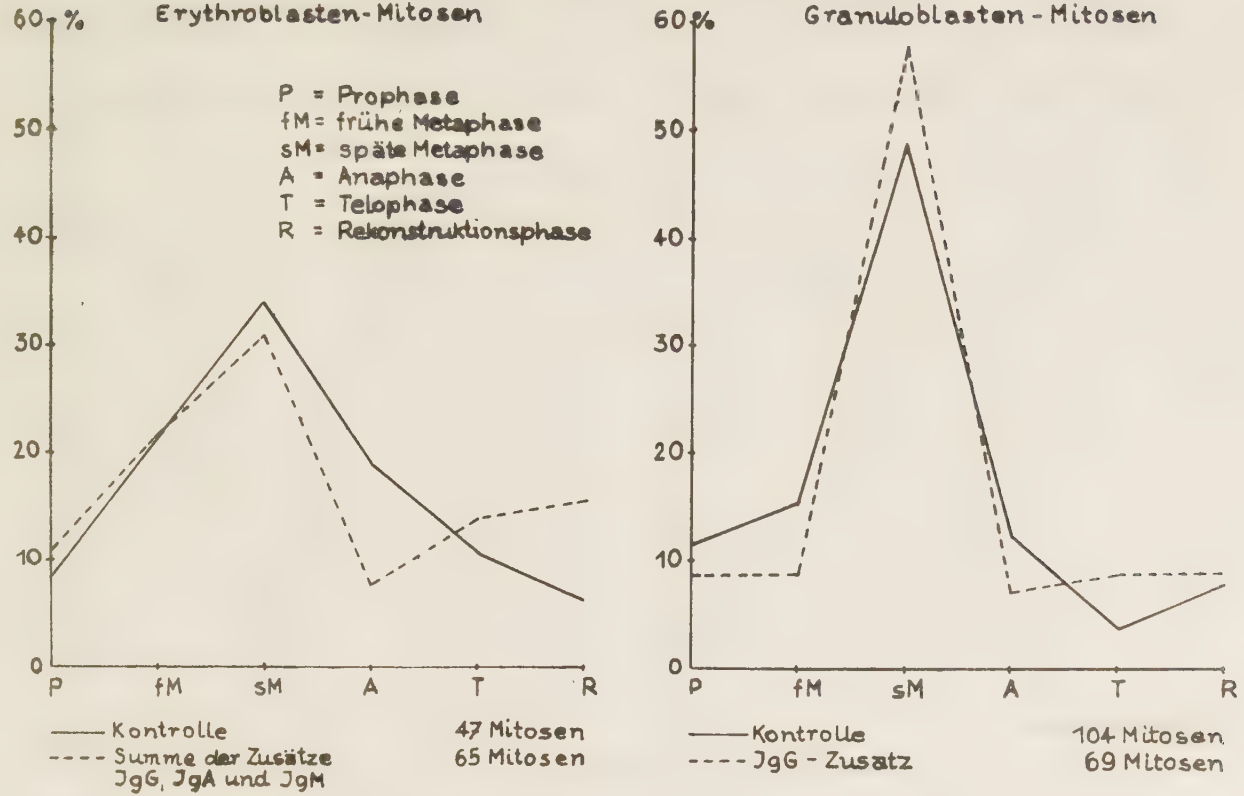
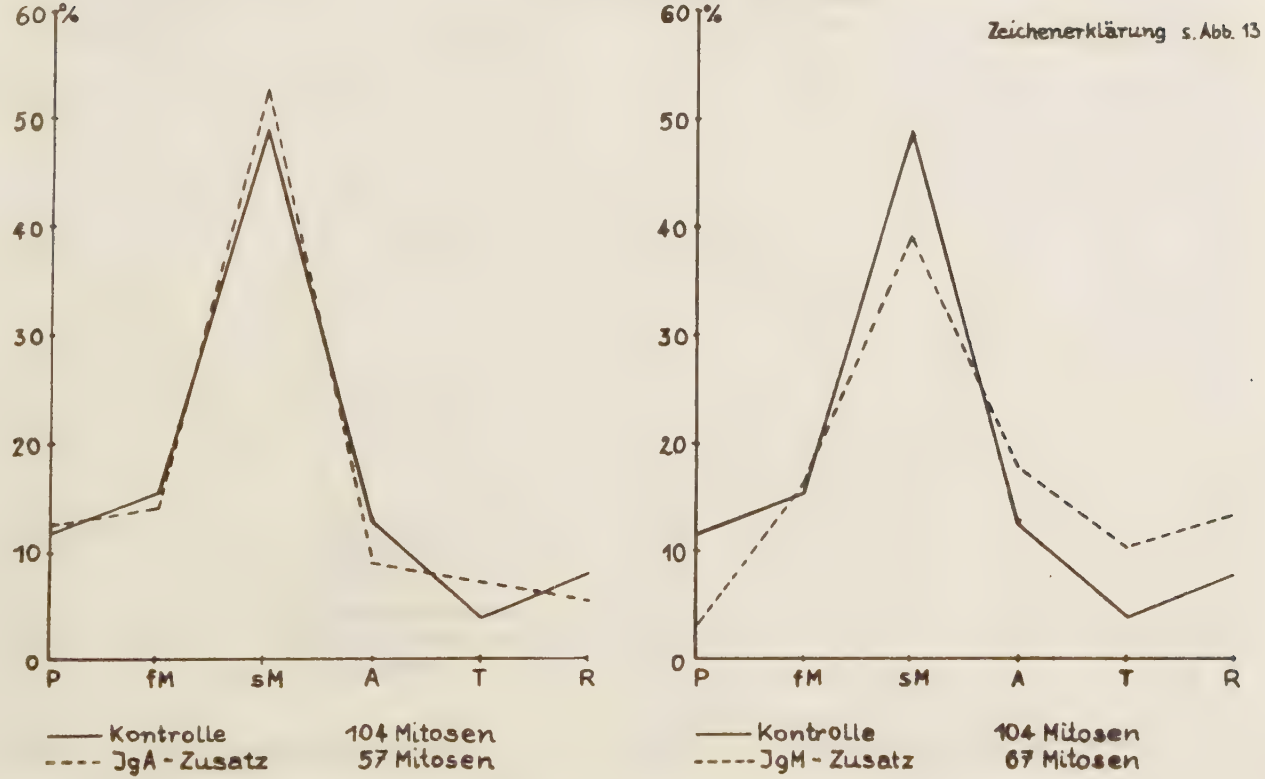


Abb. 14.

Prozentuale Verteilung der Mitosephasen

Granuloblasten - Mitosen



IV. Beurteilung der gemittelten G/E-Indizes der Kontrollkulturen und Vergleich mit den gemittelten G/E-Indizes der verschiedenen Zusätze IgG, IgA und IgM

Der G/E-Index drückt das quantitative Verhältnis der Granulopoese zur Erythropoese aus. Er wird für den Originalausstrich eines normalen Knochenmarks bei BOLL und MERSCH mit 3,7 angegeben, bei ROHR mit 3,0 und bei WINTROBE mit 2,6 (11, p. 258; 39, p. 117; 43, p. 71-72). Der gemittelte G/E-Index der Originalausstriche ist mit 2,4 also vermindert, was vor allem durch die stark angeregte Erythropoese des Patienten mit Anämie bedingt ist. Mit einem leichten Abfall nach 24 und einem Anstieg nach 48 und 72 Stunden (s. Tab. 3) entspricht der Verlauf des G/E-Index den Ergebnissen von BOLL und MERSCH (11, p. 258).

Unter Immunglobulinzusatz fällt der G/E-Index nach 24 Stunden bei allen drei Immunglobulinklassen stärker ab als in der Kontrolle, am stärksten bei IgG, am geringsten bei IgA. Nach 48 und 72 Stunden steigen die G/E-Indizes jeden Zusatzes für sich betrachtet ebenso wie in den Kontrollkulturen an. Sie liegen jedoch wie nach 24 Stunden jeweils niedriger als die der Kontrollkulturen, mit Ausnahme des IgM-72 Stunden-Wertes, der gering über dem Kontrollwert liegt. Der Unterschied zwischen Kontrolle und Zusatz erwies sich in allen Fällen als statistisch bedeutsam.

Tabelle 3

G/E-Indizes

	0 Std.	24 Std.			
		K	IgA	IgG	IgM
Pat. J.Ch.	4,14	6,35	2,85	3,73	3,60
Pat. L.B.	1,57	0,94	0,82	0,53	0,50
Pat. H.H.	2,53	1,76	2,57	1,81	2,80
Mittelwert	2,41	1,88	1,73	1,44	1,58

	48 Std.			
	K	IgA	IgG	IgM
Pat. J.Ch.	6,88	5,43	8,04	7,77
Pat. L.B.	1,31	0,72	1,07	1,36
Pat. H.H.	4,14	3,31	2,79	2,80
Mittelwert	2,88	1,87	2,42	2,68

	72 Std.			
	K	IgA	IgG	IgM
Pat. J.Ch.	5,03	5,69	8,23	4,33
Pat. L.B.	1,93	2,23	1,26	2,19
Pat. H.H.	6,62	4,30	2,29	5,79
Mittelwert	3,71	3,63	2,45	4,05

V. Signifikanzberechnung unter Betrachtung der Einzelkurven

In der Erythropoese ergab sich gegenüber der Kontrollkultur eine statistisch gesicherte Rechtsverschiebung unter Immunglobulinzusatz in folgenden Fällen:

Unter IgG-Zusatz nach 24 Kulturstunden bei den Patienten L.B. und H.H., nach 48 Stunden bei allen drei Patienten, nach 72 Stunden beim Patienten L.B.

Unter IgA-Zusatz nach 24 Stunden beim Patienten H.H., nach 48 Stunden bei den Patienten L.B. und H.H., nach 72 Stunden beim Patienten L.B.

Unter IgM-Zusatz nach 24 Stunden beim Patienten H.H., nach 48 Stunden bei den Patienten L.B. und H.H., nach 72 Stunden bei der Patientin J.Ch.

Zusammenfassend läßt sich also zur Erythropoese feststellen, daß bei jedem der drei verschiedenen Immunglobulinzusätze zu jeder der drei untersuchten Kulturzeiten in mindestens einer Einzelkurve eine statistisch gesicherte Rechtsverschiebung im Vergleich zur Kontrollkultur vorliegt.

Die in den Einzelkurven der Granulopoese gefundenen Kurvenverschiebungen unter Immunglobulinzusatz liegen alle über der Signifikanzschranke. Eine Rechtsverschiebung unter Immunglobulinzusatz ergab sich in folgenden Fällen:

Unter IgG-Zusatz nach 24 Kulturstunden bei den Patienten J.Ch. und L.B., nach 48 und 72 Stunden bei allen drei Patienten.

Unter IgA-Zusatz und ebenso unter IgM-Zusatz bei den Patienten J.Ch. und L.B., nach 48 Stunden bei den Patienten J.Ch. und H.H., nach 72 Stunden bei allen drei Patienten.

Eine Linksverschiebung in der Granulopoese lag in folgenden Versuchsansätzen vor:

Unter IgG-Zusatz nach 24 Stunden beim Patienten H.H.

Unter IgA-Zusatz, ebenso IgM-Zusatz nach 24 Stunden beim Patienten H.H., nach 48 Stunden beim Patienten L.B.

Zusammenfassend kann also festgestellt werden, daß eine statistisch gesicherte Reifungshemmung der Granulopoese für alle Immunglobulinzusätze nur nach 72 Stunden vorliegt, für IgG-Zusatz auch nach 48 Stunden.

Signifikanztabellen: P-Werte Kurvenvergleiche

Patientin J.Ch.

Erythropoese	Kulturstunden			Freiheitsgrade	Ergebnis
	24	48	72		
Vergleich Kontrolle mit					
IgA-Zusatz	P=0,12	P=0,56	P=0,022	4	Keine Sign.
IgM-Zusatz			$P<10^{-8}$	4	Sign. nur bei 72 Std.

Granulopoese	Kulturstunden			Freiheitsgrade	Ergebnis
	24	48	72		
Vergleich Kontrolle mit					
IgA-Zusatz	$P<10^{-10}$	$P<10^{-10}$	$P<10^{-10}$	7	Signifikanz

Patient L.B.

Erythropoese	Kulturstunden			Freiheitsgrade	Ergebnis
	24	48	72		
Vergleich Kontrolle mit					
IgM-Zusatz	$P<10^{-10}$	P=0,001	P=0,10	4	Sign. außer bei 72 Std.
IgG-Zusatz			$P<10^{-10}$	4	Signifikanz
IgA-Zusatz			$P<10^{-7}$	4	Sign. außer bei 24 Std.

Patient H.H.

Erythropoese	Kulturstunden			Freiheitsgrade	Ergebnis
	24	48	72		
Vergleich Kontrolle mit					
IgA-Zusatz	P<0,005	$P<10^{-6}$	P=0,05	4	Sign. außer bei 72 Std.

Ergebnisse der Signifikanzberechnungen: P-Werte

Mitoseindizes

Vergleich der Mitoseindizes der Patienten J.Ch., L.B. und H.H. in der Kontrollkultur und unter Immunglobulinzusatz:

Roter Mitoseindex:

IgA-Zusatz nach 24 Kulturstunden P=0,1
IgM-Zusatz nach 48 Kulturstunden P=0,34
} keine Signifikanz

Weißer Mitoseindex:

IgG, IgA und IgM-Zusatz nach 48 Kulturstunden P=0,3
IgG, IgA und IgM-Zusatz nach 72 Kulturstunden P=0,05
} keine Sign.

G/E-Indizes

Vergleich der G/E-Indizes der Patienten J.Ch., L.B. und H.H. in der Kontrollkultur und unter Immunglobulinzusatz:

IgG-Zusatz nach 24 Kulturstunden $P=10^{-10}$
IgA-Zusatz nach 48 Kulturstunden $P<10^{-10}$
IgG-Zusatz nach 72 Kulturstunden $P<10^{-10}$
IgA-Zusatz nach 72 Kulturstunden $P<10^{-8}$
} Signifikanz

Beurteilung der P-Werte s. S. 15.

DISKUSSION

Die Untersuchungen dieser Arbeit galten der Frage, welche Wirkungen die Immunglobuline IgG, IgA, IgM in erhöhter Konzentration auf die Proliferation der Granulo- und der Erythropoese in vitro ausüben. Die Konzentrationen der Immunglobuline in den Fremdserumzusätzen betrugen für IgG 6570 mg %, IgA 5720 mg % und IgM 2464 mg %.

Zur Beurteilung der Knochenmarkproliferation wurde nach BOLL die Differentialverteilung der verschiedenen Reifungsklassen der Granulo- und Erythropoese auf der Koagulumkultur festgestellt und in Reifungskurven veranschaulicht. Das Verhältnis der beiden Reihen zueinander wird im G/E-Index erfaßt, die Regenerationsaktivität im Mitoseindex und in den karyologischen Kurven. Absolute Zellzahlen der Kultur können bei diesem Ausstrich-Verfahren nicht bestimmt werden.[10)11)]

Für die Zusätze wurden Paraproteine von drei Plasmozytompatienten verwendet. Die APITZsche Auffassung[2)] von Paraproteinen als entarteten Eiweißen läßt sich nach KINDLER heute nicht mehr vertreten (32, p. 125). Die Verwendung von Paraproteinen zu Untersuchungen über Immunglobulineigenschaften ist nichst Ungewöhnliches, wurde doch das meiste, was über die Immunglobuline heute bekannt ist, an Paraproteinen herausgefunden. Da sich bei den Paraproteinämien eine große Menge gleichartiger Immunglobuline einer bestimmten Klasse im Serum findet, erübrigen sich komplizierte Isolierungs- und Anreicherungsverfahren, die zur Gewinnung einer größeren Menge normalen Immunglobulins einer bestimmten Klasse nötig wären. Zudem soll in der vorliegenden Arbeit festgestellt werden, ob bei einem Plasmozytomkranken von Seiten des hohen Paraproteinspiegels schädigende Wirkungen auf die hämatopoetischen Knochenmarkzellen zu erwarten sind.

Bisher wurden beim Plasmozytom folgende hämatologische Veränderungen gefunden: In vielen Fällen zeigt das rote Blutbild eine normozytäre und normochrome Anämie, die nicht

auf antinämische Therapie mit Eisen und Vitamin B 12 anspricht. Sie wird auf Verdrängung des blutbildenden Knochenmarkes durch das fortschreitende Tumorwachstum zurückgeführt, weiter auf toxische Markschädigung und auf Erythropoietinmangel. Hypochrome Anämien beruhen im allgemeinen auf rezidivierenden Blutungen bei bestimmten Komplikationen. Auch die Tumoranämie gehört hierher. Sie ist jedoch in erster Linie durch Abwanderung und Fixierung des Eisens im RES bedingt. Im Knochenmark zeigt sie eine deutliche Linksverschiebung der erythropoetischen Vorstufen mit Reifungsstörungen. Finden sich unter den Paraproteinen Antikörper gegen Erythrozyten, so kommt es zu gesteigerter Hämolyse und in deren Gefolge zur Hyperplasie der Erythropoese im Knochenmark mit Überwiegen der Normoblasten und wenn die erythropoetische Proliferation zur Kompensation nicht mehr ausreicht, zur hämolytischen Anämie. Auftreten von Megaloblastoiden und megaloblastisch veränderten roten Vorstufen wird durch relativen Vitamin B 12 Mangel aufgrund des Tumorwachstums verursacht (3, p. 647; 35, p. 391-392; 39, p. 242).

Nach KINDLER findet man eine Anämie bei 80% aller Plasmozytomfälle (32, p. 59, 113-114). KINDLER untersuchte auch die Beziehung zwischen Paraproteinkonzentration und Grad der Anämie. Er fand zwar in seinen Untersuchungen keine statistisch signifikante Korrelation, fand jedoch die Tendenz, daß mit zunehmender Paraproteinmenge der Anämiegrad steigt. Besonders bei einem Paraproteingehalt über 3,0 g % fand er schwere Anämien. Nun kann man diese Befunde auf verschiedene Ursachen zurückführen. Einmal kann man davon ausgehen, daß einer Zunahme der Paraproteinmenge eine Zunahme der Tumorgröße entspricht (BRÜCHER 1974)[15)], die wiederum zu weiterer Verdrängung der normalen Blutbildung, zu höherem Eisen- und Vitamin B 12-Verbrauch führt. Zum zweiten führt der erhöhte Paraproteinspiegel zu zunehmender Nierenschädigung mit allen Folgen für das Knochenmark (Erythropoietinmangel, toxische Markschädigung durch Urämie). Schließlich ist aber auch eine direkte Einwirkung des vermehrten

Paraproteins auf die Erythropoese in Erwägung zu ziehen.

Untersuchungen der Thrombozytenzahl bei Plasmozytom ergaben, daß sie bei 50% der Patienten unter 100 00/µl liegt (Normalwert 150 000 - 300 000/mm^3). Als Ursache steht die absinkende Megakaryozytenzahl durch Tumorverdrängung im Vordergrund (35, p. 394).

Das weiße Blutbild kann infolge der gestörten Infektabwehr durch Antikörpermangel infektiöse Leukozytosen und Lymphozytosen zeigen. Mit zunehmender plasmazellulärer Überwucherung des Knochenmarks kommt es zunächst zu quantitativen, später auch zu qualitativen Störungen der Granulopoese.

Zu den Wirkungen der Paraproteine auf Leukozyten wird von LÜDIN erwähnt, daß sie die Phagozytose hemmen (35, p. 405). Bei Amöben wird nach Beobachtungen von HOLTER (zitiert nach BOLL)[9] durch Gammaglobuline jedoch die Pinozytose angeregt. Von BOLL wird berichtet, daß eine Plasmozytomzelle im stark gammaglobulinhaltigen Patientenplasma in vitro lebhafte Pinozytoseaktivität aufwies[9]. In anderen Untersuchungen beobachtete BOLL Pinozytosevorgänge bei Plasmazellen im Knochenmark einer chronischen Myelose. Als pinozytoseanregend wurden hier von der Autorin die Eiweißverschiebungen im Blutplasma angenommen[7].

Bei meinen Auszählungen wurde das Augenmerk auch auf phagozytotische und pinozytotische Vorgänge bei Plasmazellen, Retikulumzellen, Granuloblasten und Erythroblasten gerichtet. Es fanden sich jedoch keine Auffälligkeiten, insbesondere auch keine unterschiedlichen Zytoplasmaveränderungen zwischen den Ansätzen im Eigenplasma und in den gammaglobulinreichen Zusätzen.

Die Betrachtung unserer Reifungskurven ergab in der Erythropoese sowohl bei den einzelnen Patienten als auch bei den Mittelwertkurven in den Kulturen mit Eigenserum nach 24, 48 und 72 Stunden eine zunehmende Verringerung der teilungsfähigen Zellen und Vermehrung der reifen Erythroblasten. Ein ähn-

licher Verlauf der zunehmenden Ausreifung fand sich auch in den Kulturen mit dem Zusatz der verschiedenen Immunglobuline. Die Kulturen mit Immunglobulinzusatz zeigten jedoch gegenüber den Eigenserumkulturen eine geringere Linksverschiebung. Dies bedeutet eine Hemmung der erythropoetischen Ausreifung durch die zugesetzten Immunglobuline, die sich in den meisten Fällen als signifikant erwies (s. S. 51/52). Diese Reifungshemmung setzt bei IgG-Zusatz rasch, bei IgA- und IgM-Zusatz erst allmählich ein. Der Wirkungseintritt ist jedoch nicht nach Konzentrationsdifferenzen abgestuft. IgG mit der höchsten Konzentration braucht zwar geringere Zeit, um seine hemmende Wirkung zu entfalten als die geringer konzentrierten Immunglobuline IgA und IgM. IgM aber, obwohl geringer konzentriert als IgA, hat schon nach 24 Stunden stärkere Wirkung als letzteres. Der Zeitfaktor gleicht die Konzentrationsdifferenzen dann wieder aus, so daß nach 72 Stunden bei allen Immunglobulinzusätzen eine etwa gleich starke Reifungshemmung zu verzeichnen ist.

In der Granulopoese ließ sich bei allen Reifungskurven, also Einzelkurven und Mittelwertkurven von Kontrolle sowie allen Immunglobulinzusätzen, nach 24 Stunden gegenüber den Originalausstrichen eine Zunahme der teilungsfähigen Zellen auf Kosten der reiferen Zellformen feststellen. Nach 48 und 72 Stunden zeigte sich dann aber eine umgekehrte Tendenz, das heißt eine Abnahme der teilungsfähigen Zellklassen zugunsten der reiferen. Dieser Kurvenverlauf kennzeichnet die innerhalb der ersten 24 Stunden in Gang kommende Regeneration, die dann einer zunehmenden Reifung Platz macht[11]. Ein Vergleich der Kontrollkurven mit den Immunglobulinzusätzen ergibt auch hier wie in der Erythropoese ein Überwiegen der unreiferen Formen unter Immunglobulineinwirkung, also ebenfalls eine Verzögerung der Ausreifung. Ebenso wie in der Erythropoese wirkt IgG, das die höchste Konzentration besitzt, am schnellsten, IgA und IgM langsamer, und nach 72 Kulturstunden ist die Ausreifungsverzögerung bei allen drei

untersuchten Immunglobulinklassen signifikant.

Zur Beurteilung des Verhältnisses der weißen zur roten Reihe im Verlauf der Kultivierung betrachten wir uns den G/E-Index. Er fällt unter Eigenserum wie Immunglobulinzusatz nach 24 Stunden zunächst ab und steigt dann nach 48 und 72 Stunden an. Das deutet auf ein relatives Überwiegen der Granulopoese mit zunehmender Kulturdauer. Eine Gegenüberstellung der entsprechenden G/E-Indizes von Kontrolle und Zusatz ergibt, daß der G/E-Index unter Immunglobulineinwirkung jeweils signifikant unter dem Kontrollwert liegt. Dies bedeutet eine geringere Reifungshemmung der Erythropoese als der Granulopoese in den Versuchsansätzen.

Eine Aussage über die Beeinflussung der Regeneration durch die zugesetzten Immunglobuline gestatten der Mitoseindex und die karyologischen Kurven. In unserem Falle zeigte der rote wie auch der weiße Mitoseindex aller drei Immunglobuline bei den meisten Stichproben einen Abfall gegenüber der Kontrolle. In den karyologischen Kurven findet sich unter Immunglobulinzusatz ein Anstieg der prozentualen Anteile der Telophasen und Rekonstruktionsphasen in der roten und weißen Reihe. Das bedeutet, daß die Zahl der in die Mitose eintretenden Zellen sich vermindert (8, p. 52-53). Hierfür spricht auch die Abnahme der Gesamtsumme gezählter Mitosen bei den Immunglobulinzusätzen im Vergleich zu den Kontrollkulturen. Zur Ausreifungsverzögerung, die aus der Rechtsverschiebung der Reifungskurven hervorging, kommt also eine Regenerationshemmung, d.h. der Immunglobulinzusatz führt zu einer Hemmung der gesamten Proliferation.

Aufgrund dieser in vitro Ergebnisse ist es also wahrscheinlich, daß beim Plasmozytom auch in vivo der Paraproteinspiegel die Blutbildung hemmt und damit zur Ausbildung einer Anämie und Granulozytopenie beiträgt. Dabei ist es gleichgültig, welcher der drei Immunglobulinklassen IgG, IgA oder IgM das vermehrte Paraprotein angehört. Es bleibt jedoch die Frage offen, ob andere Serumfaktoren als die Paraproteine im Serum der Malignom-Patienten vorhanden sind, die die Hemmwirkung auf die hämatopoetische Proliferation ausüben.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde die Einwirkung der drei Immunglobulinklassen IgG, IgA und IgM angereichert im Serum von Plasmozytom-Patienten, auf die Knochenmarkproliferation in vitro geprüft und verglichen.

Reifungskurven der roten und der weißen Reihe, karyologische Kurven, Mitoseindizes und G/E-Indizes wurden ausgewertet, indem jeweils der Immunglobulinzusatz mit dem Kontrollansatz in Eigenserum verglichen wurde.

Als Ergebnis wurde eine Hemmung der Reifung sowohl der Granulopoese als auch der Erythropoese nach 72 Kulturstunden bei allen drei untersuchten Immunglobulinklassen festgestellt. Dabei wurde die hemmende Wirkung auf die erythropoetische Ausreifung geringer als die auf die granulopoetische Ausreifung gefunden. Außerdem wurde die Regeneration beider Reihen durch alle Immunglobulinklassen nach den Mitoseindizes und den karyologischen Kurven reduziert. Somit ist die Proliferation durch alle drei untersuchten Immunglobulinanreicherungen im Serum von Plasmozytom-Patienten beeinträchtigt.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Apitz, K. — Die neuen Anschauungen vom Plasmozytom des Knochenmarks, dem sog. multiplen Myelom
Klin. Wschr. 19 (1940) 1025

2. Apitz, K. — Die Paraproteinosen (über die Störung des Eiweißstoffwechsels bei Plasmocytomen)
Virchows Arch. path. Anat. 306 (1940) 631

3. Begemann, H. — Klinische Hämatologie
Georg Thieme, Stuttgart 1970

4. Belitz, H.-J. — Sonderdruck aus Mathematikunterricht 3/60
Klett, Stuttgart

5. Bessis, M., Scébat, L. — Etude des cellules de la série plasmocytaire
Rev. hémat. 1 (1946) 447

6. Boll, I. — Morphologische Studien zum Verhalten von Knochenmarkzellen in vitro
1. Mitteil.: Granuloblastenmitosen
Fol.hämatolog. 3,1 (1958)

7. Boll, I. — Morphologische Veränderungen an Plasma- und Plasmozytomzellen im Phasenkontrastmikroskop
Wissenschaftl. Film demonstriert auf dem Xéme congrés de la société européenne d'hématologie
Strasbourg 1965

8. Boll, I. Granulocytopoese unter physiologischen und pathologischen Bedingungen Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1966

9. Boll, I. Morphologische Veränderungen einer Plasmozytomzelle während 4 Tagen in vitro Blut 14 (1967) 351

10. Boll, I. und Mersch, G. Morphologische Untersuchungen zur Proliferationskinetik der normalen und pathologischen Erythropoese in vitro Blut 17 (1968) 193

11. Boll, I. und Mersch, G. Morphologische Untersuchungen zur Proliferationskinetik der normalen und pathologischen Granulocytopoese in vitro Blut 19 (1969) 257

12. Boll, I. Leitfaden der cytolog. Knochenmark-Diagnostik J.F. Lehmann, München 1973

13. Brass, K. Zur Zytologie und Funktion der Plasma- und Plasmozytomzellen Frankf. Zschr. Path. 57 (1943) 481

14. Braunsteiner, H. Entstehen die Plasmazellen aus Lymphozyten? Dtsch. Med. Wschr, 89 (1964) 45

15. Brücher, H. Das beginnende Plasmozytom Blut 28 (1974) 136

16. Burnet, F.H. — The clonal selection theory of acquired immunity
Vanderbilt University Press
Nashville 1959

17. Coons, A.H., Ledue, E.H., Conolly, J.M. — Studies on antibody production
J. exp. Med. 102 (1955) 49

18. Dörken, H. und Vollmer, I. — Die Epidemiologie des multiplen Myeloms, Archiv für Geschwulstforschung 31 (1968) 18
Theodor Steinkopff, Dresden

19. Dubois-Ferrière, H. — La genèse et la fonction des plasmocytes
Sang 19 (1948) 574

20. Ehrich, W.E. — Morphologie und Physiologie der Antikörperbildung
Verh. dtsch. Ges. Path. (1962) 10

21. Engelhardt, K. — Schnelle Entwicklung eines Plasmozytoms aus einer rudimentären Paraproteinämie?
Med. Klin. 59 (1964) 819

22. Fahey, J.L. — Function of lymphocytes and plasma cells - immunoglobulin synthesis.
In: Williams, W.J., Beutler, E., Erslev, A.J., Rundles, R.W.: Hematology, 791
McGraw-Hill, New York St. Louis 1972

23. Fateh-Moghadam, A. — Therapie des Plasmozytoms
Münch. med. Wschr. 115 (1973) 861

24. Ferrata, A., Storti, E.
Sulla diagnosi del mieloma multiplo mediante la sola puntura sternale
Minerva med. Torino (1937) 1

25. Fishman, M., Adler, F.L., Dray, S.
Antibody formation initiated in vitro
J. Immunol. 97 (1966) 554

26. Fleischhacker, H.
Über die Bedeutung der Retikuloendothelien und Plasmazellen des Knochenmarks
Erg. inn. Med. 60 (1941) 508

27. Geigy
Wissenschaftliche Tabellen
Geigy Pharmazeutika, Wehr/Baden 1973
p. 36

28. Guglielmo, G. di, Ruggieri, P.
La malattia di Waldenström (reticolosi linfoide disprotidemica)
14. Congr. Soc. ital. ematol. (1956) 135

29. Haurowitz, F.
Antibody formation
Physiol. Rev. 45 (1965) 1

30. Kabat, E.
Einführung in die Immunchemie und Immunologie
Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1971

31. Keilhack, H., Linck, K.
Über die Plasmazellenleukämie
Dtsch. Arch. klin. Med. 188 (1941) 88

32. Kindler, U.
Paraproteinämien
Georg Thieme, Stuttgart 1973

33. Klima, R.
Über das Blut- und Knochenmarksbild bei multiplem Myelom
Wien. Klin. Wschr. 49 (1936) 767

34. Lambin, P. — Recherches sur la rôle hématopoiétique du système réticuloendothélial; les cellules de Ferrata
Haematologica 8 (1927) 349

35. Lüdin, H. — Die Plasmozytome. In: Heilmeyer, L. und Hittmair, A.: Hdb. ges. Hämatologie Bd. V/3/2, 381
Urban & Schwarzenberg
München-Berlin-Wien 1969

36. Osgood, E.E., Ashworth, C.M. — Atlas of hematology
Stacy, San Francisco 1938

37. Pauling, L. — A theory of the structure and process of formation of antibodies
J. Amer. chem. Soc. 62 (1940) 2640

38. Pribilla, W., Stecher, G. und Kanzow, U. — Untersuchungen über die Pathogenese der Anämie bei Plasmozytom und Makroglobulinämie Waldenström
Dtsch. med. Wschr. 90 (1965) 988

39. Rohr, K. — Das menschliche Knochenmark
Georg Thieme, Stuttgart 1960

40. Sabrazès, J., Saric, R. — Angines lympho-monocytaires agranulocytoses, leucémies leucopéniques
Masson, Paris 1935

41. Undritz, E. — Die Plasmazellen im Tierreich und ihre anzunehmende Bedeutung als Drüsenzellen für die Bildung der Bluteiweißkörper
Helvet. med. acta 5 (1938) 548

42. Weerdt, W. de — Recherches hématologiques sur la biopsie médullaire
Rev. belge sc. méd. 11 (1939) 297

43. Wintrobe, M.M. — Clinical Hematology
Lea & Febiger, Philadelphia 1974

Frau Prof. Dr. med. I. Boll danke ich für die Überlassung des Themas und ihren stets fachkundigen Rat.

Die statistischen Untersuchungen wurden dankenswerter Weise von Herrn Prof. Dr. H.-J. Belitz (Genetisches Institut) überprüft.

LEBENSLAUF

Am 7.12.1951 wurde ich als erstes von zwei Kindern des Philologen Ulrich Bamborschke und seiner Ehefrau Annemarie, geb. Träger in Berlin geboren.

Von April 1958 bis März 1964 besuchte ich die 3. Grundschule in Berlin-Tempelhof, ab April 1964 die Askanische Oberschule in Tempelhof, an der ich im Januar 1971 mein Abitur bestand.
Im April 1971 erfolgte meine Immatrikulation an der Freien Universität Berlin zum Studium der Humanmedizin. Im März legte ich meine naturwissenschaftliche Vorprüfung, im August 1973 meine ärztliche Vorprüfung ab.

Der Abschluß meines Medizinstudiums erfolgte am 22. Februar 1977 an der Freien Universität Berlin mit dem Staatsexamen.